KIRKPATRICK
INTELLECTUAL PROPERTY

40
N.V.

966297/TP

SERVICE PUBLIC FEDERAL ECONOMIE,
PME, CLASSES MOYENNES ET ENERGIE
OFFICE DE LA PROPRIETE INTELLECTUELLE
BOULEVARD ROI ALBERT II, 16
1000 BRUXELLES

INFORMATIQUE
13.03.2009

OUR REF	DATE
PAT55748BEEP / PGE	03 mars 2009

Messieurs,

Re : Brevet européen no 0966297 (97938261.1)
Au nom de AMYLIN PHARMACEUTICALS, INC.
Date de dépôt de la demande: 08 août 1997

La mention de la délivrance de ce brevet européen a été publiée au Bulletin Européen des Brevets du 17 décembre 2008

Afin d'assurer la protection en Belgique et conformément à l'article 65 de la Convention de Munich, je vous remets une traduction du fascicule du brevet européen.

Type de pouvoir : Pouvoir Spécial

Je vous remercie de bien vouloir me confirmer la publication de cette traduction et vous prie d'agréer, Messieurs, l'expression de mes sentiments distingués.

OFFICE KIRKPATRICK

p.o. Guy PLUCKER

OPRI-DIE
03.03.2009
ENTREE
INGEKOMEN

Kirkpatrick SA/NV Intellectual Property
LA HULPE - Avenue Wolfers 32 - BE-1310 La Hulpe - Tel: +32 2 652 16 00 - Fax: +32 2 652 19 00
DIEGEM - Twin Squares - Culliganlaan 1B - BE-1831 Diegem - Tel: +32 2 403 11 34 - Fax: +32 2 403 11 38
VAT : BE426 603 921 - RPM NIVELLES - 0426 603 921
ING Bank : 310-0115119-66 - IBAN BE07 3100 1151 1966 - SWIFT/BIC BBRUBEBB100
FORTIS Bank : 210-0717846-01 - IBAN BE43 2100 7178 4601 - SWIFT/BIC GEBABEBB
www.kirkpatrick.eu - ip@kirkpatrick.eu

WE PROTECT. YOU GROW.
ISO 9001 BUREAU VERITAS Certification

Belgium

FOR PATENTS, TRADE-MARKS OR DESIGNS
IN BELGIUM

POWER OF ATTORNEY

The undersigned
Amylin Pharmaceuticals, Inc.
9360 Towne Centre Drive
San Diego, California 92121 - USA

hereby constitute(s) and appoint(s)

to represent me (us) in all proceedings relating to
National Validation of
European Patent Application No.
EP0966297 (97938261.1)

In the execution of this Power the said Agents are hereby authorized to sign and file all documents to pay and withdraw all taxes, including the maintenance taxes and do generally all that may be necessary or useful to complete the proceedings referred to above.

Signed at San Diego, California - USA

this 15th day of August, 2008

POUVOIR SPÉCIAL

soussigné(s)

constitue(nt) pour mandataires

MM. Guy PLUCKER, Pierre-paul FRENNET et Marie-Paule VANDEBERG mandataires agrées conforemément à l'article 60 de la loi belge sur les brevets et ayant tous leur adresse professionnelle à l'OFFICE KIRKPATRICK
Avenue Wolfers, 32, 1310 La Hulpe

à l'effet de me (nous) représenter dans toutes procédures relatives au brevet belge issu du brevet européen 0966297 accordé le 17 décembre 2008

En conséquence, lesdits mandataires sont autorisés à signer et déposer toutes pièces, à verser et retirer toutes taxes y compris les taxes de maintien en vigueur et à faire en général tout ce qui sera nécessaire et utile à la bonne exécution des procédures précitées.

Signature: BY: Harry J. Leondardt, Esq.

Capacity: Vice President, Chief Intellectual Property Counse

Fait à

le

(11) Numéro de publication européen : 0966297

(12) TRADUCTION DU BREVET EUROPEEN (B1)

(21) Numéro de dépôt de la demande de brevet européen : 97938261.1

(22) Date de dépôt de la demande de brevet européen :08 août 1997

(45) Numéro et date du Bulletin Européen où la mention de la délivrance a été publiée : 08/51 du 17 décembre 2008

---

(54) Titre : REGULATION DE LA MOTILITE GASTRO-INTESTINALE

---

(73) Titulaire du brevet : AMYLIN PHARMACEUTICALS, INC.

(51) Int. Cl. : A61K38/00

(74) Mandataire: OFFICE KIRKPATRICK
Avenue Wolfers, 32
B-1310 LA HULPE

REGULATION DE LA MOTILITE GASTRO-INTESTINALE

DOMAINE DE L'INVENTION

La présente invention se rapporte à la fabrication de médicaments pour réguler la motilité gastro-intestinale. Plus particulièrement, l'invention se rapporte à l'utilisation d'exendines et de certains analogues agonistes de celles-ci dans la fabrication de médicaments pour le traitement de troubles qui pourraient être améliorés avec des agents utiles dans le retardement et/ou le ralentissement de la vidange gastrique.

CONTEXTE

La description suivante inclut des informations qui peuvent être utiles pour comprendre la présente invention. Il n'est pas reconnu que toute information fournie ici est une technique antérieure de l'invention revendiquée ici, ni que l'une quelconque des publications référencées spécifiquement ou implicitement sont une technique antérieure de cette invention.

EXENDINE

Les exendines sont des peptides qui se trouvent dans le venin du monstre de Gila, lézard rencontré en Arizona. L'exendine-3 [SEQ. ID. NO. 1] est présente dans le venin de *Heloderma horridum*, et l'exendine-4 [SEQ. ID. NO. 2] est présente dans le venin de *Heloderma suspectum* (Eng, J., *et al., J. Biol. Chem.,* 265 : 20259-20262 ; 1900 ; Eng., J., *et al., J. Biol. Chem.,* 267 : 7402-7405, 1992). Les exendines ont une certaine similitude de séquence avec plusieurs membres de la famille des peptides de type glucagon, la plus haute homologie, 53 %, étant avec GLP-

1[7-36]NH_2 (Goke *et al., J. Biol. Chem.*, 268 : 19650-19655, 1993). GLP-1[7-36]NH_2 [SEQ. ID. NO. 3] est aussi connue sous le nom de proglucagon[78-107], ou simplement le raccourci "GLP-1", qui est utilisé de façon interchangeable avec GLP-1[7-36]NH_2 tout au long de cette demande. Les séquences de l'exendine-3, de l'exendine-4 et de GLP-1 sont présentées à la figure 1. GLP-1 a un effet insulinotropique, stimulant la sécrétion d'insuline par les cellules β pancréatiques ; GLP-1 inhibe aussi la sécrétion de glucagon par les cellules α pancréatiques (Ørskov *et al., Diabetes,* 42 : 658-661, 1993 ; D'Alessio *et al., J. Clin. Invest.*, 97 : 133-138, 1996). GLP-1 inhiberait aussi la vidange gastrique (Willms B *et al., J. Clin. Endocrinol. Metab.* 81(1) : 327-332, 1996 ; Wettergren A *et al., Dig. Dis. Sci.* 38(4) : 665-673, 1993), et la sécrétion d'acide gastrique. Schjoldager BT *et al., Dig. Dis. Sci.* 34(5) : 703-708, 1989 ; O'Halloran DJ *et al., J. Endocrinol.* 126(1) : 169-173, 1990 ; Wettergren A. *et al., Dig. Dis. Sci.* 38(4) : 665-673, 1993). GLP-1[7-37], qui a un résidu glycine supplémentaire à son extrémité carboxy, stimule aussi la sécrétion d'insuline chez les humains (Ørskov *et al., Diabetes,* 42 : 658-661, 1993).

Un récepteur transmembranaire couplé aux protéines G adénylate-cyclase qui serait responsable de l'effet insulinotropique de GLP-1 a été cloné à partir d'une lignée de cellules β (Thorens, *Proc. Natl. Acad. Sci.* USA 89 : 8641-8645 (1992) ci-après dénommé "récepteur GLP-1 cloné". L'exendine 4 serait un agoniste puissant aux récepteurs GLP-1 sur les cellules βTC1 sécrétant de l'insuline, à des cellules acinaires dispersées de pancréas de cochon d'Inde et à des cellules pariétales de l'estomac ; le peptide stimulerait aussi la libération de somatostatine et inhiberait la libération de gastrine dans des estomacs

isolés (Goke *et al., J. Biol. Chem.,* 268 : 19650-19655, 1993 ; Schepp *et al., Eur. J. Pharmacol.,* 69 : 183-191, 1994 ; Eissele *et al., Life Sci.,* 55 : 629-634, 1994). L'exendine-3 et l'exendine-4 se sont révélées être des agonistes de GLP-1 lors de la stimulation de production d'AMPc dans des cellules acinaires pancréatiques et la libération d'amylase à partir de celles-ci (Malhotra, R. *et al., Regulatory Peptides,* 41 : 149-156, 1992 ; Raufman *et al., J. Biol. Chem.,* 267 : 21432-21437, 1992 ; Singh *et al., Regul. Pept.* 53 : 47-59, 1994). Sur la base des activités insulinotropiques de l'exendine-3 et de l'exendine-4, leur utilisation a été proposée pour le traitement d'un diabète et la prévention d'une hyperglycémie (Eng, brevet U.S. n° 5424286).

A la différence des exendines de longueur totale, les peptides exendines tronqués tels que l'exendine[9-39], molécule carboxyamidée, et les fragments 3-39 à 9-39 de l'exendine seraient des antagonistes puissants et sélectifs de GLP-1 (Goke *et al., J. Biol. Chem.,* 268 : 19650-19655, 1993 ; Schepp, W. *et al., Eur. J. Pharm.* 269 : 183-191, 1994 ; Montrose-Rafizadeh *et al., Diabetes,* 45 (Suppl. 2) : 152A, 1996). L'exendine[9-39], dont la séquence est présentée à la figure 1, bloquerait GLP-1 endogène *in vivo,* conduisant à une sécrétion d'insuline réduite. Wang *et al., J. Clin. Invest.,* 95 : 417-421, 1995 ; D'Alessio *et al., J. Clin. Invest.,* 97 : 133-138, 1996). Les exendines et l'exendine[9-39] se lient au récepteur GLP-1 cloné (Fehmann HC *et al., Peptides* 15(3) : 453-456, 1994 ; Thorens B *et al., Diabetes* 42(11) : 1678-1682, 1993). Dans des cellules transfectées avec le récepteur GLP-1 cloné, l'exendine-4 est un agoniste, à savoir elle augmente l'AMPc, alors que l'exendine[9-39] est un antagoniste, à savoir elle bloque les actions stimulatrices de l'exendine-4 et de GLP-1.

L'exendine[9-39] agirait aussi en tant qu'antagoniste des exendines de longueur totale, inhibant la stimulation des cellules acinaires pancréatiques par l'exendine 3 et l'exendine 4 (Raufman *et al., J. Biol. Chem.* 266 : 2897-2902, 1991 ; Raufman *et al., J. Biol. Chem.,* 266 : 21432-21437, 1992). L'exendine[9-39] inhiberait la stimulation des taux d'insuline plasmatique par l'exendine 4, et inhibe les activités de stimulation de la libération de somatostatine et d'inhibition de libération de gastrine de l'exendine-4 et GLP-1 (Kolligs, F. *et al., Diabetes,* 44 : 16-19, 1995 ; Eissele *et al., Life Sciences,* 55 : 629-634, 1994).

US-A-5424286 décrit des compositions pharmaceutiques contenant de l'exendine-3, de l'exendine-4 ou des fragments de celles-ci et leur utilisation dans le traitement d'un diabète et la prévention d'une hyperglycémie.

Les agents qui servent à retarder la vidange gastrique ont trouvé une place en médecine en tant qu'outils de diagnostic dans des examens gastro-intestinaux radiologiques. Par exemple, le glucagon est une hormone polypeptidique qui est produite par les cellules α des îlots pancréatiques de Langerhans. C'est un agent hyperglycémique qui mobilise le glucose en activant la glycogénolyse hépatique. Il peut, à un moindre degré, stimuler la sécrétion d'insuline pancréatique. Le glucagon est utilisé dans le traitement d'une hypoglycémie induite par insuline lorsque l'administration intraveineuse de glucose n'est pas possible. Cependant, comme le glucagon réduit la motilité du tube digestif, il est aussi utilisé en tant qu'outil de diagnostic dans des examens gastro-intestinaux radiologiques. Le glucagon a aussi été utilisé dans plusieurs études pour traiter divers troubles gastro-intestinaux douloureux associés à un spasme. Daniel *et al.*,

(*Br. Med. J.*, 1974, **3**, 720) ont rapporté un soulagement des symptômes plus rapide d'une diverticulite aiguë chez des patients traités avec du glucagon par rapport à ceux qui avaient été traités avec des analgésiques ou des antispasmodiques. Une étude de Glauser *et al.*, (*J. Am. Coll. Emergency Physns*, 8 : 228, 1979) décrit le soulagement d'une obstruction oesophagienne alimentaire aiguë après thérapie par glucagon. Dans une autre étude, le glucagon a significativement soulagé une douleur et une sensibilité chez 21 patients ayant une maladie du tractus biliaire par rapport à 22 patients traités avec un placebo (M.J. Stower *et al.*, *Br. J. Surg.*, 69 : 591-592, 1982).

Des procédés pour réguler la motilité gastro-intestinale en utilisant des agonistes d'amyline sont décrits dans WO 95/07098 publié le 16 mars 1995.

RESUME DE L'INVENTION

La présente invention concerne la découverte surprenante selon laquelle les exendines sont de puissants inhibiteurs de la vidange gastrique. Les exendines et agonistes d'exendines sont utiles en tant qu'inhibiteurs de la vidange gastrique pour le traitement, par exemple, d'un diabète, d'une obésité, d'une ingestion de toxines ou à des fins de diagnostic.

La présente invention procure des médicaments qui peuvent être utilisés pour réduire la motilité gastrique et ralentir la vidange gastrique, comprenant une exendine, par exemple l'exendine 3 [SEQ ID. NO. 1], l'exendine 4 [SEQ ID. NO. 2], ou d'autres composés, tels que présentés dans les revendications, qui se lient efficacement au récepteur auquel les exendines exercent leur action sur la motilité gastrique et la vidange gastrique. Ils vont être utiles dans le traitement, par exemple, d'une hyperglycémie postprandiale, d'une complication associée à un diabète de

type 1 (insulino-dépendant) et de type 2 (non insulino-dépendant).

Dans un premier aspect, l'invention fournit l'utilisation d'une exendine ou d'un analogue agoniste d'exendine dans la fabrication d'un médicament pour l'utilisation dans le traitement d'une maladie ou d'un trouble qui pourrait être amélioré par une diminution de motilité gastro-intestinale ou un retard de la vidange gastrique, dans laquelle ladite maladie ou ledit trouble est choisi parmi une diverticulite aiguë, un syndrome de chasse postprandiale, une hyperglycémie postprandiale associée à une tolérance au glucose détériorée, une hyperglycémie postprandiale associée à un diabète de type 1 ou une hyperglycémie postprandiale associée à un diabète de type 2,

dans laquelle ladite exendine ou ledit analogue agoniste d'exendine procure la réduction de motilité gastrique ou le retard de vidange gastrique, et

dans laquelle ladite exendine ou ledit analogue agoniste d'exendine est un composé de formule :

1 5 10

$Xaa_1\ Xaa_2\ Xaa_3\ Gly\ Thr\ Xaa_4\ Xaa_5\ Xaa_6\ Xaa_7\ Xaa_8$

15 20

$Ser\ Lys\ Gln\ Xaa_9\ Glu\ Glu\ Glu\ Ala\ Val\ Arg\ Leu$

25 30

$Xaa_{10}\ Xaa_{11}\ Xaa_{12}\ Xaa_{13}\ Leu\ Lys\ Asn\ Gly\ Gly\ Xaa_{14}$

35

$Ser\ Ser\ Gly\ Ala\ Xaa_{15}\ Xaa_{16}\ Xaa_{17}\ Xaa_{18}\text{-}Z$

dans laquelle Xaa_1 est His, Arg ou Tyr ; Xaa_2 est Ser, Gly, Ala ou Thr ; Xaa_3 est Asp ou Glu ; Xaa_4 est Phe, Tyr ou naphtylalanine ; Xaa_5 est Thr ou Ser ; Xaa_6 est Ser ou Thr ; Xaa_7 est Asp ou Glu ; Xaa_8 est Leu, Ile, Val, pentylglycine ou Met ; Xaa_9 est Leu, Ile, pentylglycine,

Val ou Met ; Xaa_{10} est Phe, Tyr ou naphtylalanine ; Xaa_{11} est Ile, Val, Leu, pentylglycine, tert-butylglycine ou Met ; Xaa_{12} est Glu ou Asp ; Xaa_{13} est Trp, Phe, Tyr ou naphtylalanine ; Xaa_{14}, Xaa_{15}, Xaa_{16} et Xaa_{17} sont indépendamment Pro, homoproline, 3Hyp, 4Hyp, thioproline, N-alkylglycine, N-alkylpentylglycine ou N-alkylalanine ; Xaa_{18} est Ser, Thr ou Tyr ; et Z est -OH ou $-NH_2$;
ou un sel pharmaceutiquement acceptable de ceux-ci.

Dans un mode de mise en oeuvre, la présente invention peut être utilisée pour réduire la motilité gastrique. Dans un autre mode de mise en oeuvre, l'invention peut être utilisée pour retarder la vidange gastrique.

L'invention peut être utilisée pour réduire la motilité gastrique chez un sujet souffrant d'un trouble gastro-intestinal, par exemple un spasme (qui peut être associé à une diverticulite aiguë, un trouble du tractus biliaire ou un trouble du sphincter d'Oddi).

Dans un autre aspect, l'invention se rapporte à l'utilisation d'une exendine ou d'un analogue agoniste d'exendine tels que définis ci-dessus dans un mode opératoire de diagnostic gastro-intestinal, dans laquelle ladite exendine ou ledit analogue agoniste d'exendine procure une régulation bénéfique de la motilité gastrointestinale, par exemple dans un examen radiologique ou une imagerie par résonance magnétique.

Dans un autre aspect, une quantité thérapeutiquement efficace d'un agoniste d'amyline doit aussi être administrée au sujet. Dans un aspect préféré, l'agoniste d'amyline est une amyline ou un analogue agoniste d'amyline tel que ^{25,28,29}Pro-amyline humaine. L'utilisation d'agonistes d'amyline pour traiter une hyperglycémie postprandiale, ainsi que pour réguler bénéfiquement la motilité gastro-intestinale, est décrite dans WO 95/07098.

Dans un autre aspect encore, une quantité thérapeutiquement efficace d'une insuline ou d'un analogue d'insuline doit être administrée, séparément ou conjointement avec une exendine ou un analogue d'exendine, au sujet.

Dans un autre aspect, l'invention se rapporte à l'utilisation d'une exendine ou d'un analogue agoniste d'exendine tels que définis ci-dessus dans la fabrication d'un médicament pour l'utilisation dans le traitement d'une ingestion de toxine, dans laquelle ladite exendine ou ledit analogue agoniste d'exendine procure une régulation bénéfique de la motilité gastrointestinale.

La présente invention fournit plus encore une exendine ou un analogue agoniste d'exendine tels que définis ci-dessus, pour l'utilisation dans :

(a) le traitement d'une maladie ou d'un trouble qui pourrait être amélioré par une diminution de motilité gastro-intestinale ou un retard de la vidange gastrique, où ladite maladie ou ledit trouble est choisi parmi une diverticulite aiguë, un syndrome de chasse postprandiale, une hyperglycémie postprandiale associée à une tolérance au glucose détériorée, une hyperglycémie postprandiale associée à un diabète de type 1 ou une hyperglycémie postprandiale associée à un diabète de type 2 ;

ladite exendine ou ledit analogue agoniste d'exendine procurant la réduction de motilité gastrique ou le retard de vidange gastrique ; ou

(b) l'utilisation dans le traitement d'une ingestion de toxine, ladite exendine ou ledit analogue agoniste d'exendine procurant une régulation bénéfique de la motilité gastro-intestinale.

DEFINITIONS

Selon la présente invention et tels qu'utilisés ici,

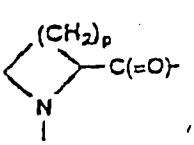
les termes suivants sont définis pour avoir les significations suivantes, sauf indication contraire explicite.

L'expression "agoniste d'exendine" se rapporte à un composé qui imite les effets des exendines sur la motilité gastrique et la vidange gastrique, à savoir un composé qui se lie efficacement au récepteur auquel les exendines exercent leur action sur la motilité gastrique et la vidange gastrique, de préférence un analogue ou dérivé d'une exendine.

L'expression "acide aminé" désigne des acides aminés naturels, des acides aminés non naturels et des analogues d'acides aminés, tous en leurs stéréo-isomères D et L si leur structure permet de telles formes stéréo-isomères. Les acides aminés naturels incluent l'alanine (Ala), l'arginine (Arg), l'asparagine (Asn), l'acide aspartique (Asp), la cystéine (Cys), la glutamine (Gln), l'acide glutamique (Glu), la glycine (Gly), l'histidine (His), l'isoleucine (Ile), la leucine (Leu), la lysine (Lys), la méthionine (Met), la phénylalanine (Phe), la proline (Pro), la sérine (Ser), la thréonine (Thr), le tryptophane (Trp), la tyrosine (Tyr) et la valine (Val). Les acides aminés non naturels incluent, de façon non limitative, l'acide azétidinecarboxylique, l'acide 2-aminoadipique, l'acide 3-aminoadipique, la bêta-alanine, l'acide aminopropionique, l'acide 2-aminobutyrique, l'acide 4-aminobutyrique, l'acide 6-aminocaproïque, l'acide 2-aminoheptanoïque, l'acide 2-aminoisobutyrique, l'acide 3-aminoisobutyrique, l'acide 2-aminopimélique, la butylglycine tertiaire, l'acide 2,4-diaminoisobutyrique, la desmosine, l'acide 2,2'-diaminopimélique, l'acide 2,3-diaminopropionique, la N-éthylglycine, la N-éthylasparagine, l'homoproline, l'hydroxylysine, l'allo-hydroxylysine, la 3-hydroxyproline, la 4-

hydroxyproline, l'isodesmosine, l'allo-isoleucine, la N-méthylalanine, la N-méthylglycine, la N-méthylisoleucine, la N-méthylpentylglycine, la N-méthylvaline, la naphtalanine, la norvaline, la norleucine, l'ornithine, la pentylglycine, l'acide pipécolique et la thioproline. Les analogues d'acides aminés incluent les acides aminés naturels et non naturels qui sont chimiquement bloqués, réversiblement ou irréversiblement, ou modifiés sur leur groupe amino N-terminal ou leurs groupes de chaîne latérale, comme par exemple le sulfoxyde de méthionine, la méthionine sulfone, la S-(carboxyméthyl)cystéine, le sulfoxyde de S-(carboxyméthyl)cystéine et la S-(carboxyméthyl)cystéine sulfone.

L'expression "analogue d'acide aminé" se rapporte à un acide aminé dans lequel soit le groupe carboxy C-terminal, le groupe amino N-terminal soit le groupe fonctionnel de chaîne latérale a été modifié chimiquement en un autre groupe fonctionnel. Par exemple, un (ester bêta-méthylique) d'acide aspartique est un acide aminé analogue de l'acide aspartique ; la N-éthylglycine est un acide aminé analogue de la glycine ; ou l'alanine carboxamide est un acide aminé analogue de l'alanine.

L'expression "résidu d'acide aminé" désigne des radicaux ayant la structure : (1) -C(O)-R-NH-, où R est généralement -CH(R')-, où R' est une chaîne latérale d'acide aminé, généralement H ou un substituant contenant du carbone ; ou (2) 

, où p est 1, 2 ou 3, représentant les résidus acide azétidinecarboxylique, proline ou acide pipécolique, respectivement.

Le terme "inférieur" cité ici en rapport avec des radicaux organiques tels que des groupes alkyles définit de

tels groupes ayant jusqu'à et incluant environ 6, de préférence jusqu'à et incluant 4 et avantageusement un ou deux atomes de carbone. De tels groupes peuvent être une chaîne linéaire ou une chaîne ramifiée.

"Sel pharmaceutiquement acceptable" inclut les sels des composés de la présente invention issus de la combinaison de tels composés et d'un acide organique ou inorganique. Dans la pratique, l'utilisation de la forme saline équivaut à l'utilisation de la forme basique. Les composés de la présente invention sont utiles à la fois sous forme de base libre et de sel, les deux formes étant considérées comme étant dans le cadre de la présente invention.

De plus, les abréviations suivantes représentent ce qui suit :

"ACN" ou "CH_3CN" désigne l'acétonitrile.

"Boc", "tBoc" ou Tboc" désigne un t-butoxycarbonyle.

"DCC" désigne le N,N'-dicyclohexylcarbodiimide.

"Fmoc" désigne un fluorénylméthoxycarbonyle.

"HBTU" désigne l'hexafluorophosphate de 2-(1H-benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tétraméthyluronium.

"HOBt" désigne le 1-hydroxybenzotriazole monohydraté.

"homoP" ou "hPro" désigne l'homoproline.

"MeAla" ou "Nme" désigne la N-méthylalanine.

"naph" désigne la naphtylalanine.

"pG" ou pGl"y" désigne la pentylglycine.

"tBuG" désigne la butylglycine tertiaire.

"ThioP" ou tPro" désigne la thioproline.

DESCRIPTION SUCCINCTE DES DESSINS

La figure 1 présente une comparaison des séquences des acides aminés de l'exendine 3, de l'exendine 4 et de l'exendine[9-39] en utilisant des codes d'acides aminés à une lettre plutôt qu'à trois lettres.

La figure 2 présente les effets dose-réponse de

l'injection sous-cutanée préalable de GLP-1[7-36]NH_2, de l'exendine-3 et de l'exendine-4 sur la rétention du contenu gastrique 20 minutes après gavage chez des rats normaux (n = 3-17 pour chaque point). Les symboles sont des moyennes ± SEM et les courbes définissent les fonctions logistiques de meilleur ajustement. "Zéro" indique la fraction du contenu gastrique retenu chez des rats normaux non traités.

La figure 3 présente les effets dose-réponse d'une injection préalable d'exendine-4 (n = 29), d'exendine-4 acide (n = 36) et de ^{14}Leu,^{25}Phe exendine-4 (n = 36) sur la rétention du contenu gastrique 20 minutes après gavage chez des rats normaux. Les symboles sont la moyenne plus ou moins l'erreur type de la moyenne et les courbes définissent les fonctions logistiques de meilleur ajustement. "Zéro" indique la fraction du contenu gastrique retenue chez des rats normaux non traités.

La figure 4 présente l'effet de l'injection préalable de 1,0 µg d'exendine-4 (sc), n = 6 ; de 1,0 µg d'exendine-4 (sc) plus 0,3 mg d'exendine[9-39] (sc), n = 6 ; et de 0,3 mg d'exendine[9-39] (sc), n = 6 sur la rétention du contenu gastrique 20 minutes après gavage. Sont aussi présentés des témoins salins à t=0 et t=20 min. Les barres d'erreur présentent l'erreur type de la moyenne. Comme le montre la figure 4, l'exendine-4 seule a puissamment inhibé la vidange gastrique. L'exendine[9-39] (sc) seule n'a pas eu d'effet sur la vidange gastrique. Lorsqu'elle est injectée conjointement avec de l'exendine-4, l'exendine[9-39] n'a pas antagonisé l'effet de l'exendine-4 sur l'inhibition de la vidange gastrique.

La figure 5 présente l'effet de l'injection préalable de 0,3 µg d'exendine-4 (sc), n=5 et de 0,3 µg d'exendine-4 (sc) plus 0,5 mg d'exendine[9-39] (iv), n=5 sur la rétention du contenu gastrique 20 minutes après gavage.

Sont aussi présentés des témoins salins à t+0 et t=20 min. Les barres d'erreur présentent l'erreur type de la moyenne. Comme le montre la figure 5, l'exendine-4 seule a puissamment inhibé la vidange gastrique. Lorsqu'elle est injectée conjointement avec de l'exendine-4, l'exendine[9-39] (iv) n'a pas antagonisé l'effet de l'exendine-4 sur l'inhibition de la vidange gastrique.

La figure 6 présente l'effet de l'injection préalable de 10 µg de GLP-1[7-36]NH_2 (sc), n=8 ; de 10 µg de GLP-1[7-36]NH_2 (sc) plus 3 mg d'exendine[9-39] (sc), n=6 ; et de 0,3 mg d'exendine[9-39] (sc), n=6 sur la rétention du contenu gastrique 20 minutes après gavage. Sont aussi présentés des témoins salins à t=0 et t=20 min. Les barres d'erreur présentent l'erreur type de la moyenne. Comme le montre la figure 6, GLP-1[7-36]NH_2 a puissamment inhibé la vidange gastrique. L'exendine[9-39] (sc) seule n'a pas eu d'effet sur la vidange gastrique. Lorsqu'elle est injectée conjointement avec GLP-1[7-36]NH_2, l'exendine[9-39] n'a pas antagonisé l'effet de GLP-1[7-36]NH_2 sur l'inhibition de la vidange gastrique.

La figure 7 présente l'effet de l'injection préalable de 10 µg de GLP-1[7-36]NH_2 (sc), n=8, et de 10 µg de GLP-1[7-36]NH_2 (sc) plus 0,5 mg d'exendine[9-39] (iv), n=3 sur la rétention du contenu gastrique 20 minutes après gavage. Sont aussi présentés des témoins salins à t=0 et t=20 min. Les barres d'erreur présentent l'erreur type de la moyenne. Comme le montre la figure 7, GLP-1[7-36]NH_2 seul a puissamment inhibé la vidange gastrique. Lorsqu'elle est injectée conjointement avec GLP-1[7-36]NH_2, l'exendine[9-39] (iv) n'a pas antagonisé l'effet de GLP-1[7-36]NH_2 sur l'inhibition de la vidange gastrique.

Les figures 8-1 et 8-2 décrivent les séquences des acides aminés pour certains agonistes d'exendine [SEQ. ID.

NOS. 5 à 35].

DESCRIPTION DETAILLEE DE L'INVENTION

Les exendines et les agonistes d'exendine (incluant les analogues d'exendine et les dérivés d'exendine) sont utiles dans cette invention compte tenu de leurs propriétés pharmacologiques. L'activité en tant qu'agonistes d'exendine peut être indiquée par l'activité dans les essais décrits ci-après. Les effets des exendines ou des agonistes d'exendine sur la motilité gastrique et la vidange gastrique peuvent être identifiés, évalués ou recherchés en utilisant les procédés décrits dans les exemples 1 à 3 ci-après, ou d'autres procédés connus dans la technique ou équivalents pour déterminer la motilité gastrique. Les essais de récepteurs négatifs ou des recherches de composés agonistes d'exendine ou de composés agonistes d'exendine candidats, tels qu'une préparation de récepteur GLP-1, un essai/triage de récepteur d'amyline en utilisant une préparation de récepteur d'amyline telle que décrite dans le brevet U.S. n° 5264372, délivré le 23 novembre 1993, un ou plusieurs essais/triages de récepteur de calcitonine en utilisant, par exemple, des cellules de carcinome du sein T47D et MCF7, qui contiennent des récepteurs de calcium couplés à la stimulation de l'activité d'adényl cyclase, et/ou un essai/triage de récepteur CGRP en utilisant, par exemple, des cellules SK-N-MC, peuvent être utilisés pour évaluer et/ou confirmer l'activité d'agoniste d'exendine.

Un tel procédé pour l'utilisation dans l'identification ou l'évaluation de l'aptitude d'un composé à ralentir la motilité gastrique, comprend : (a) la réunion d'un échantillon d'essai et d'un système d'essai, ledit échantillon d'essai comprenant un ou plusieurs composés d'essai, ledit système d'essai comprenant un système pour

évaluer la motilité gastrique, ledit système étant caractérisé en ce qu'il présente, par exemple, un glucose plasmatique élevé en réponse à l'introduction, dans ledit système, de glucose ou d'un repas ; et (b) la détermination de la présence ou du degré d'élévation du glucose plasmatique dans ledit système. Des témoins positifs et/ou négatifs peuvent être utilisés également.

Les exendines et les composés agonistes d'exendine tels que les analogues d'exendine et les dérivés d'exendine décrits ici peuvent être préparés par purification peptidique comme décrit, par exemple, dans Eng *et al., J. Biol. Chem.* 265 : 20259-20262, 1990 ; et Eng *et al., J. Biol. Chem.* 267 : 7402-7405, 1992. En variante, les exendines et les peptides agonistes d'exendine peuvent être préparés par des procédés connus de l'homme du métier, par exemple comme décrit dans Raufman *et al.* (*J. Biol. Chem.* 267 : 21432-21437, 1992), en utilisant des techniques de synthèse peptidique en phase solide standards et de préférence un synthétiseur peptidique automatisé ou semi-automatisé. Généralement, un acide aminé à protection α-N-carbamoyle et un acide aminé attaché à la chaîne peptidique en croissance sur une résine sont couplés à température ambiante dans un solvant inerte tel que le diméthylformamide, la N-méthylpyrrolidinone ou le chlorure de méthylène en présence d'agents de couplage tels que le dicyclohexylcarbodiimide et le 1-hydroxybenzotriazole en présence d'une base telle que la diisopropyléthylamine. Le groupe protecteur α-N-carbamoyle est enlevé du peptide-résine obtenu en utilisant un réactif tel que l'acide trifluoroacétique ou la pipéridine, et la réaction de couplage répétée avec l'acide aminé N-protégé souhaité suivant devant être ajouté à la chaîne peptidique. Des groupes N-protecteurs appropriés sont bien connus dans la

technique, t-butyloxycarbonyle (tBoc) et fluorénylméthoxy-carbonyle (Fmoc) étant préférés ici.

Les solvants, les dérivés d'acides aminés et la résine 4-méthylbenzhydryl-amine utilisés dans le synthétiseur peptidique peuvent être acquis auprès de *Applied Biosystems Inc.* (Foster City, CA). Les acides aminés à chaîne latérale protégée tels que Boc-Arg(Mts), Fmoc-Arg(Pmc), Boc-Thr(Bzl), Fmoc-Thr(t-Bu), Boc-Ser(Bzl), Fmoc-Ser(t-Bu), Boc-Tyr(BrZ), Fmoc-Tyr(t-Bu), Boc-Lys(Cl-Z), Fmoc-Lys(Boc), Boc-Glu(Bzl), Fmoc-Glu(t-Bu), Fmoc-His(Trt), Fmoc-Asn(Trt) et Fmoc-Gln(Trt) peuvent être acquis auprès de *Applied Biosystems, Inc.* Boc-His(BOM) peut être acquis auprès de *Applied Biosystems, Inc.* ou *Bachem Inc.* (Torrance, CA). L'anisole, le sulfure de méthyle, le phénol, l'éthanedithiol et le thioanisole peuvent être obtenus auprès de *Aldrich Chemical Company* (Milwaukee, WI). *Air Products and Chemicals* (Allentown, PA) fournit HF. L'éther éthylique, l'acide acétique et le méthanol peuvent être acquis auprès de *Fisher Scientific* (Pittsburgh, PA).

La synthèse peptidique en phase solide peut être effectuée avec un synthétiseur peptidique automatique (modèle 430A, *Applied Biosystems Inc.*, Foster City, CA) en utilisant le système NMP/HOBt (option 1) et un procédé chimique à tBoc ou Fmoc (voir le manuel d'utilisateur de *Applied Biosystems* pour le synthétiseur peptidique ABI 430A, version 1.3B, 1er juillet 1988, section 6, pp. 49-70, *Applied Biosystems, Inc.*, Foster City, CA) avec coiffage. Les résines Boc-peptide peuvent être clivées avec HF (-5 °C à 0 °C, 1 heure). Le peptide peut être extrait de la résine avec une alternance d'eau et d'acide acétique, et les filtrats lyophilisés. Les résines Fmoc-peptide peuvent être clivées d'après des procédés standards (*Introduction to Cleavage Techniques, Applied Biosystems, Inc.*, 1990, pp. 6-

12). Les peptides peuvent aussi être assemblés en utilisant un synthétiseur *Advanced Chem Tech* (modèle MPS 350, Louisville, Kentucky). Les peptides peuvent être purifiés par RP-CLHP (préparative et analytique) en utilisant un système *Waters Delta Prep 3000*. Une colonne préparative C4, C8 ou C18 (10 µm, 2,2 x 25 cm ; Vydac, Hesperia, CA) peut être utilisée pour isoler les peptides, et la pureté peut être déterminée en utilisant une colonne analytique C4, C8 ou C18 (5 µm, 0,46 x 25 cm ; Vydac). Les solvants (A=0,1 % TFA/eau et B=0,1 % TFA/CH_3CN) peuvent être délivrés à la colonne analytique à un débit de 1,0 ml/min. et à la colonne préparative à 15 ml/min. Les analyses des acides aminés peuvent être réalisées sur le système *Waters Pico Tag* et traités en utilisant le programme Maxima. Les peptides peuvent être hydrolysés par hydrolyse acide en phase vapeur (115 °C, 20-24 h). Les hydrolysats peuvent être transformés et analysés par des procédés standards (Cohen, S.A., Meys, M. et Tarrin, T.L. (1989), *The Pico Tag Method: A Manual of Advanced Techniques for Amino Acid Analysis,* pp. 11-52, *Millipore Corporation,* Milford, MA). Une analyse par bombardement d'atomes rapides peut être effectuée par *M-Scan, Incorporated* (West Chester, PA). L'étalonnage de masse peut être effectué en utilisant de l'iodure de césium ou de l'iodure de césium/glycérol. L'analyse par désorption ionisation par plasma en utilisant une détection de temps de vol peut être effectuée sur un spectromètre de masse *Applied Biosystems Bio-Ion 20.*

Des composés peptidiques utiles dans l'invention peuvent aussi être préparés en utilisant des techniques d'ADN recombinant, en utilisant des procédés maintenant connus dans la technique. Voir, par exemple, Sambrook *et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual,* 2^e éd. Cold Spring Harbor (1989). En variante, de tels composés peuvent

être préparés par des procédés de synthèse peptidique en phase homogène.

L'utilisation de certains analogues agonistes d'exendine ou dérivés est incluse dans la présente invention. Les analogues ou dérivés d'exendine sont des variantes fonctionnelles ayant une séquence d'acides aminés semblable et retenant, à un certain degré, au moins les activités liées à la motilité gastrique et à la vidange gastrique de l'exendine apparentée. Par "variante fonctionnelle", il est entendu un analogue ou dérivé qui a une activité qui peut remplacer une ou plusieurs activités d'une exendine particulière. Des variantes fonctionnelles préférées retiennent toutes les activités d'une exendine particulière, cependant la variante fonctionnelle peut avoir une activité qui, lorsqu'elle est mesurée quantitativement, est plus forte ou plus faible, telle que mesurée dans des essais fonctionnels d'exendine, par exemple tels que ceux décrits ici. Des variantes fonctionnelles préférées ont des activités qui sont dans les environ 1 % à environ 10 000 % de l'activité de l'exendine apparentée, de préférence encore d'environ 10 % à environ 1000 %, et de préférence encore dans les environ 50 % à environ 500 %. Les dérivés ont au moins environ 15 % de similitude de séquence, de préférence environ 70 %, de préférence encore environ 90 % et de préférence encore environ 95 % de similitude de séquence avec l'exendine apparentée. "Similitude de séquence" désigne "l'homologie" constatée entre les séquences des acides aminés dans deux polypeptides différents, quelle que soit l'origine des polypeptides.

L'aptitude de l'analogue ou du dérivé à retenir une certaine activité peut être mesurée en utilisant les techniques décrites ici.

Les dérivés incluent une modification se produisant pendant ou après la traduction, par exemple par phosphorylation, glycosylation, réticulation, acylation, clivage protéolytique, liaison à une molécule d'anticorps, une molécule membranaire ou un autre ligand (voir Ferguson *et al., Annu. Rev. Biochem.* 57 : 285-320, 1988).

Des sortes spécifiques d'analogues incluent les altérations d'acides aminés telles que les délétions, les substitutions, les additions et les modifications d'acides aminés. Une "délétion" se rapporte à l'absence d'un ou plusieurs résidu(s) d'acides aminés dans le polypeptide apparenté. Une "addition" désigne la présence d'un ou plusieurs résidu(s) d'acides aminés dans le polypeptide apparenté. Les additions et délétions d'un polypeptide peuvent être à l'extrémité amino, l'extrémité carboxy et/ou internes. Une "modification" d'acide aminé désigne l'altération d'un acide aminé naturel pour produire un acide aminé non naturel. Une "substitution" désigne le remplacement d'un ou plusieurs résidu(s) d'acide(s) aminé(s) par un autre (d'autres) résidu(s) d'acide(s) aminé(s) dans le polypeptide. Les analogues peuvent contenir différentes combinaisons ou altérations incluant plus d'une altération et différentes sortes d'altérations.

Des analogues préférés ont une ou plusieurs altération(s) d'acide(s) aminé(s) qui n'affectent pas significativement l'activité d'agoniste d'exendine. Dans les régions de l'exendine non nécessaires pour l'activité d'agoniste d'exendine, des acides aminés peuvent être délétés, ajoutés ou substitués avec moins de risque d'affecter l'activité. Dans les régions requises pour l'activité d'agoniste d'exendine, les altérations d'acides aminés sont moins préférées car il y a un plus grand risque d'affecter l'activité de l'exendine. De telles altérations

doivent être des altérations conservatrices. Par exemple, un ou plusieurs résidus d'acides aminés à l'intérieur de la séquence peuvent être substitués par un autre acide aminé d'une polarité semblable qui agit en tant que variante fonctionnelle.

Les régions conservées tendent à être plus importantes pour l'activité de protéine que les régions non conservées. Des modes opératoires connus peuvent être utilisés pour déterminer les régions conservées et non conservées importantes à l'activité de récepteur en utilisant des techniques de mutagenèse *in vitro* ou des analyses de délétion et en mesurant l'activité des récepteurs comme le décrit la présente description.

Les modifications à un polypeptide spécifique peuvent être délibérées, comme par mutagenèse dirigée à un site et substitution d'acide aminé pendant la synthèse en phase solide, ou peuvent être accidentelles comme par des mutations chez les hôtes ou systèmes qui produisent le polypeptide.

Des composés utiles selon la présente invention sont des composés agonistes d'exendine de formule (I) [SEQ. ID. NO. 4] :

1 5 10
Xaa_1 Xaa_2 Xaa_3 Gly Thr Xaa_4 Xaa_5 Xaa_6 Xaa_7 Xaa_8
15 20
Ser Lys Gln Xaa_9 Glu Glu Glu Ala Val Arg Leu

25 30
Xaa_{10} Xaa_{11} Xaa_{12} Xaa_{13} Leu Lys Asn Gly Gly Xaa_{14}
35
Ser Ser Gly Ala Xaa_{15} Xaa_{16} Xaa_{17} Xaa_{18}-Z

où Xaa_1 est His, Arg ou Tyr ; Xaa_2 est Ser, Gly, Ala ou Thr ; Xaa_3 est Asp ou Glu ; Xaa_4 est Phe, Tyr ou naphtalanine ; Xaa_5 est Thr ou Ser ; Xaa_6 est Ser ou Thr ; Xaa_7 est Asp ou Glu ; Xaa_8 est Leu, Ile, Val, pentylglycine

ou Met ; Xaa_9 est Leu, Ile, pentylglycine, Val ou Met ; Xaa_{10} est Phe, Tyr ou naphtalanine ; Xaa_{11} est Ile, Val, Leu, pentylglycine, tert-butylglycine ou Met ; Xaa_{12} est Glu ou Asp ; Xaa_{13} est Trp, Phe, Tyr ou naphtylalanine ; Xaa_{14} , Xaa_{15}, Xaa_{16} et Xaa_{17} sont indépendamment Pro, homoproline, 3Hyp, 4Hyp, thioproline, N-alkylglycine, N-alkylpentylglycine ou N-alkylalanine ; Xaa_{18} est Ser, Thr ou Tyr ; et Z est -OH ou $-NH_2$; avec pour condition que le composé n'ait pas la formule des SEQ. ID. NOS. 1 ou bien 2. Des groupes N-alkyles préférés pour la N-alkylglycine, la N-alkylpentylglycine et la N-alkylalanine incluent les groupes alkyles inférieurs, de préférence à 1 à environ 6 atomes de carbone, de préférence encore de 1 à 4 atomes de carbone. Des composés appropriés incluent ceux ayant les séquences d'acides aminés des SEQ. ID. NOS. 5 à 35.

Des composés agonistes d'exendine préférés incluent ceux dans lesquels Xaa_1 est His ou Tyr. De préférence encore, Xaa_1 est His.

Sont préférés les composés dans lesquels Xaa_2 est Gly.

Sont préférés les composés dans lesquels Xaa_9 est Leu, pentylglycine ou Met.

Sont préférés les composés dans lesquels Xaa_{13} est Trp ou Phe.

Sont aussi préférés les composés dans lesquels Xaa_4 est Phe ou naphtalanine ; Xaa_{11} est Ile ou Val et Xaa_{14}, Xaa_{15}, Xaa_{16} et Xaa_{17} sont indépendamment choisis parmi Pro, homoproline, thioproline ou N-alkylalanine. De préférence, la N-alkylalanine a un groupe N-alkyle de 1 à environ 6 atomes de carbone.

D'après un aspect spécialement préféré, Xaa_{15}, Xaa_{16} et Xaa_{17} sont le même résidu d'acide aminé.

Sont préférés les composés dans lesquels Xaa_{18} est Ser ou Tyr, de préférence encore Ser.

De préférence, Z est $-NH_2$.

Selon un aspect, sont préférés les composés de formule (I) dans lesquels Xaa_1 est His ou Tyr, de préférence encore His ; Xaa_2 est Gly ; Xaa_4 est Phe ou naphtalanine ; Xaa_9 est Leu, pentylglycine ou Met ; Xaa_{10} est Phe ou naphtalanine ; Xaa_{11} est Ile ou Val ; Xaa_{14}, Xaa_{15}, Xaa_{16} et Xaa_{17} sont indépendamment choisis parmi Pro, homoproline, thioproline ou N-alkylalanine ; et Xaa_{18} est Ser ou Tyr, de préférence encore Ser. De préférence encore, Z est $-NH_2$.

Selon un aspect spécialement préféré, des composés spécialement préférés incluent ceux de formule (I) dans laquelle : Xaa_1 est His ou Arg ; Xaa_2 est Gly ; Xaa_3 est Asp ou Glu ; Xaa_4 est Phe ou naphtylalanine ; Xaa_5 est Thr ou Ser ; Xaa_6 est Ser ou Thr ; Xaa_7 est Asp ou Glu ; Xaa_8 est Leu ou pentylglycine ; Xaa_9 est Leu ou pentylglycine ; Xaa_{10} est Phe ou naphtylalanine ; Xaa_{11} est Ile, Val ou t-butylglycine ; Xaa_{12} est Glu ou Asp ; Xaa_{13} est Trp ou Phe ; Xaa_{14}, Xaa_{15}, Xaa_{16} et Xaa_{17} sont indépendamment Pro, homoproline, thioproline ou N-méthylalanine ; Xaa_{18} est Ser ou Tyr ; et Z est $-OH$ ou $-NH_2$; avec pour condition que le composé n'ait pas la formule des SEQ. ID. NOS 1 ou bien 2. De préférence encore, Z est $-NH_2$. Des composés spécialement préférés incluent ceux ayant la séquence d'acides aminés des SEQ. ID. NOS. 5, 6, 17, 18, 19, 22, 24, 31, 32 et 35.

Selon un aspect spécialement préféré, sont fournis des composés où Xaa_9 est Leu, Ile, Val ou pentylglycine, de préférence encore Leu ou pentylglycine, et Xaa_{13} est Phe, Tyr ou naphtylalanine, de préférence encore Phe ou naphtylalanine. Ces composés présenteraient une durée d'action avantageuse et seraient moins sujets à une dégradation oxydative, tant *in vitro* qu'*in vivo,* ainsi que pendant la synthèse du composé.

Les composés référencés ci-dessus forment des sels avec

divers acides et bases inorganiques et organiques. De tels sels incluent les sels préparés avec des acides organiques et inorganiques, par exemple HCl, HBr, H_2SO_4, H_3PO_4, l'acide trifluoroacétique, l'acide acétique, l'acide formique, l'acide méthanesulfonique, l'acide toluènesulfonique, l'acide maléique, l'acide fumarique et l'acide camphre-sulfonique. Les sels préparés avec des bases incluent les sels d'ammonium, les sels de métaux alcalins, par exemple les sels de sodium et de potassium, et les sels alcalino-terreux, par exemple les sels de calcium et de magnésium. Les sels acétates, chlorhydrates et trifluoroacétates sont préférés. Les sels peuvent être formés par des moyens classiques, comme en faisant réagir les formes acide ou base libres du produit avec un ou plusieurs équivalents de la base ou de l'acide approprié dans un solvant ou un milieu dans lequel le sel est insoluble, ou dans un solvant tel que l'eau qui est ensuite enlevé sous vide ou en lyophilisant ou en échangeant les ions d'un sel existant par un autre ion sur une résine échangeuse d'ions appropriée.

Les composés décrits ci-dessus sont utiles compte tenu de leurs propriétés pharmacologiques. En particulier, les composés de l'invention possèdent une activité en tant qu'agents pour réguler la motilité gastrique et pour ralentir la vidange gastrique, comme le montre l'aptitude à inhiber les degrés de vidange gastrique chez des mammifères.

Comme le décrit l'exemple 1, la vidange gastrique a été mesurée chez des rats Sprague Dawley normaux en utilisant la rétention d'un gel de méthylcellulose acalorique contenant du rouge de phénol délivré par gavage. La teneur en colorant dans les estomacs enlevés après sacrifice 20 minutes plus tard a été déterminée spectroscopiquement et a

été comparée à celle de rats sacrifiés immédiatement après gavage pour évaluer la vidange. Les exendines, l'exendine 3 et l'exendine 4, ont inhibé la vidange gastrique de façon dépendante de la dose. La DE_{50} de la réponse à l'exendine 3 et à l'exendine 4 était de 0,1 et 0,08 µg, respectivement, démontrant que les exendines étaient ~170 à 290 fois plus puissantes que GLP-1[7-36]NH_2 à inhiber la vidange gastrique.

Comme le décrit l'exemple 2, les effets de l'exendine-4 et des analogues d'exendine-4, de l'exendine-4 acide et de ^{14}Leu,^{25}Phe exendine-4 sur l'inhibition de la vidange gastrique ont été examinés. L'exendine-4 et les analogues d'exendine-4 ont inhibé la vidange gastrique de façon dépendante de la dose. La DE_{50} de l'exendine-4 était de 0,27 µg. Les DE_{50} de l'exendine-4 acide et de ^{14}Leu,^{25}Phe exendine-4 étaient 0,12 µg et 0,29 µg, respectivement, indiquant que la puissance des analogues était comparable à celle de l'exendine-4.

Comme le décrit l'exemple 3, les effets de l'exendine-4 et de l'antagoniste du récepteur GLP-1 cloné, exendine[9-39], sur la vidange gastrique ont été examinés. Au bout de 20 minutes, les animaux traités avec l'exendine-4 ont présenté une inhibition puissante de la vidange gastrique, qui n'a pas été inversée par l'exendine[9-39]. Cela s'est produit que l'exendine[9-39] soit administrée sc ou iv. L'exendine[9-39] seule n'a pas eu d'effet sur la vidange gastrique.

Comme noté ci-dessus, l'exendine[9-39] est un antagoniste puissant de GLP-1 qui se lie au récepteur GLP-1 cloné (Fehmann HC *et al.*, *Peptides* 15(3) : 453-456, 1994 ; Thorens B *et al.*, *Diabetes* 42(11) : 1678-1682, 1993). Curieusement, cependant, l'exendine[9-39] n'a pas bloqué l'effet de l'exendine-4 sur la vidange gastrique (voir

figures 4 et 5). Ces résultats indiquent que les effets des exendines et des agonistes d'exendine sur la vidange gastrique ne sont pas dus à la liaison des exendines au récepteur GLP-1 cloné, mais en fait que les effets sur la vidange gastrique des exendines et des agonistes d'exendines sont dus à leur action sur un récepteur séparé.

Le fait que les exendines peuvent agir par des mécanismes autres que ceux attribuables au récepteur GLP-1 cloné est plus encore démontré par l'absence rapportée d'effet de l'exendine-4 sur l'inhibition de la sécrétion d'acide gastrique induite par pentagastrine, en dépit de l'effet inhibiteur de GLP-1 sur une telle sécrétion. Gedulin *et al., Diabetologia,* 40 (Suppl. 1) : A300 (abrégé 1181) (1997). De plus, comme le décrit WO 98/80231 intitulé "Use of Exendins and Agonists Therefor for the Reduction of Food Intake", de l'exendine injectée périphériquement a inhibé l'absorption d'aliment chez des souris, action non constatée avec GLP-1.

Des compositions utiles dans l'invention peuvent commodément être fournies sous la forme de formulations convenant à l'administration parentérale (incluant intraveineuse, intramusculaire et sous-cutanée) ou nasale ou orale. Dans certains cas, il va être commode de fournir une exendine ou un agoniste d'exendine et un autre agent anti-vidange, comme le glucagon, ou de l'amyline ou un agoniste d'amyline, dans une seule composition ou solution pour l'administration conjointe. Dans d'autres cas, il peut être plus avantageux d'administrer un autre agent anti-vidange séparément de ladite exendine ou dudit agoniste d'exendine. Une forme d'administration appropriée peut être la mieux déterminée par un praticien médical pour chaque patient individuellement. Des véhicules pharmaceutiquement acceptables appropriés et leur formulation sont décrits

dans des traités de formulation standard, par exemple *Remington's Pharmaceutical Sciences* par E.W. Martin. Voir aussi Wang, Y.J. et Hanson, M.A. "Parenteral Formulations of Proteins and Peptides: Stability and Stabilizers", *Journal of Parenteral Science and Technology,* Rapport technique n° 10, supp. 42 : 2S (1988).

Des composés utiles dans l'invention peuvent être fournis sous la forme de compositions parentérales pour injection ou perfusion. Ils peuvent par exemple être mis en suspension dans une huile inerte, de préférence une huile végétale telle que l'huile de sésame, d'arachide, d'olive, ou un autre véhicule acceptable. De préférence, ils sont mis en suspension dans un véhicule aqueux, par exemple dans une solution de tampon isotonique à un pH d'environ 5,6 à 7,4. Ces compositions peuvent être stérilisées par des techniques de stérilisation classiques ou peuvent être stérilisées par filtration. Les compositions peuvent contenir des substances auxiliaires pharmaceutiquement acceptables selon les besoins pour s'approcher des conditions physiologiques, comme des agents tamponnant le pH. Des tampons utiles incluent, par exemple, les tampons acétate de sodium/acide acétique. Une forme de préparation lente ou à libération lente "dépôt" peut être utilisée de sorte que des quantités thérapeutiquement efficaces de la préparation sont délivrées dans la circulation sanguine sur de nombreuses heures ou de nombreux jours après l'injection ou la délivrance transdermique.

L'isotonicité souhaitée peut être obtenue en utilisant du chlorure de sodium ou d'autres agents pharmaceutiquement acceptables tels que le dextrose, l'acide borique, le tartrate de sodium, le propylèneglycol, les polyols (tels que le mannitol et le sorbitol), ou d'autres solutés inorganiques ou organiques. Le chlorure de sodium est

particulièrement préféré pour les tampons contenant des ions sodium.

Les compositions peuvent aussi être formulées sous la forme de sels pharmaceutiquement acceptables (par exemple, sels d'addition avec un acide) et/ou de complexes de ceux-ci. Des sels pharmaceutiquement acceptables sont des sels non toxiques à la concentration à laquelle ils sont administrés. La préparation de tels sels peut faciliter l'utilisation pharmacologique en modifiant les caractéristiques physico-chimiques de la composition sans empêcher la composition d'exercer son effet physiologique. Des exemples d'altérations utiles des propriétés physiques incluent l'abaissement du point de fusion pour faciliter l'administration transmuqueuse et l'augmentation de la solubilité pour faciliter l'administration de concentrations plus élevées de la substance médicamenteuse.

Des sels pharmaceutiquement acceptables incluent les sels d'addition avec un acide tels que ceux contenant un sulfate, un chlorhydrate, un phosphate, un sulfamate, un acétate, un citrate, un lactate, un tartrate, un méthanesulfonate, un éthanesulfonate, un benzènesulfonate, un *p*-toluènesulfonate, un cyclohexylsulfamate et un quinate. Des sels pharmaceutiquement acceptables peuvent être obtenus à partir d'acides tels que l'acide chlorhydrique, l'acide sulfurique, l'acide phosphorique, l'acide sulfamique, l'acide acétique, l'acide citrique, l'acide lactique, l'acide tartrique, l'acide malonique, l'acide méthanesulfonique, l'acide éthanesulfonique, l'acide benzènesulfonique, l'acide *p*-toluènesulfonique, l'acide cyclohexylsulfamique et l'acide quinique. De tels sels peuvent être préparés, par exemple, en faisant réagir les formes acide ou base libres du produit avec un ou plusieurs équivalents de la base ou de l'acide appropriés dans un

solvant ou un milieu dans lequel le sel est insoluble, ou dans un solvant tel que l'eau qui est ensuite enlevé sous vide ou en lyophilisant ou en échangeant les ions d'un sel existant par un autre ion sur une résine échangeuse d'ions appropriée.

Des véhicules ou des excipients peuvent aussi être utilisés pour faciliter l'administration du composé. Des exemples de véhicules et d'excipients incluent le carbonate de calcium, le phosphate de calcium, divers sucres tels que le lactose, le glucose ou le saccharose, ou des sortes d'amidons, les dérivés de cellulose, la gélatine, les huiles végétales, les polyéthylèneglycols et les solvants physiologiquement compatibles. Les compositions ou la composition pharmaceutique peuvent être administrées par des voies différentes, incluant intraveineuse, intrapéritonéale, sous-cutanée et intramusculaire, orale, topique ou transmuqueuse.

Si on le souhaite, les solutions des compositions ci-dessus peuvent être épaissies avec un agent épaississant tel que la méthylcellulose. Elles peuvent être préparées sous forme émulsifiée, soit eau dans huile soit huile dans eau. L'un quelconque d'une large variété d'agents émulsifiants pharmaceutiquement acceptables peut être employé incluant, par exemple la poudre de gomme arabique, un agent tensioactif non ionique (tel qu'un Tween) ou un agent tensioactif ionique (comme les sulfates ou sulfonates alcalins de polyéther alcool, par exemple un Triton).

Des compositions utiles dans l'invention sont préparées en mélangeant les ingrédients en suivant des modes opératoires généralement acceptés. Par exemple, les constituants choisis peuvent être simplement mélangés dans un mélangeur ou un autre dispositif standard pour produire un mélange concentré qui peut ensuite être ajusté à la

concentration et la viscosité finales par l'addition d'eau ou d'agent épaississant et éventuellement d'un tampon pour réguler le pH ou d'un soluté supplémentaire pour contrôler la tonicité.

Pour l'utilisation par un médecin, les compositions vont être fournies sous forme posologique unitaire contenant une quantité d'une exendine ou d'un agoniste d'exendine, par exemple l'exendine 3, l'exendine 4, avec ou sans un autre agent anti-vidange. Des quantités thérapeutiquement efficaces d'une exendine ou d'un agoniste d'exendine pour l'utilisation dans le contrôle de la vidange gastrique et dans des conditions dans lesquelles la vidange gastrique est bénéfiquement ralentie ou régulée sont celles qui diminuent les taux de glycémie postprandiale, de préférence à pas plus d'environ 8 ou 9 mM ou de sorte que les taux de glycémie sont réduits selon les besoins. Chez les personnes diabétiques ou intolérantes au glucose, les taux de glucose plasmatique sont plus élevés que chez les personnes normales. Chez de telles personnes, une réduction bénéfique ou "régularisation" des taux de glycémie postprandiale peut être obtenue. Comme le reconnaîtra l'homme du métier, une quantité efficace d'agent thérapeutique va varier avec de nombreux facteurs incluant l'âge et le poids du patient, l'état physique du patient, le taux de glycémie ou le degré d'inhibition de la vidange gastrique devant être obtenu, et d'autres facteurs.

De telles compositions pharmaceutiques sont utiles pour provoquer une hypomotilité gastrique chez un sujet et peuvent être utilisées également dans d'autres troubles où une motilité gastrique est bénéfiquement réduite.

La dose anti-vidange quotidienne efficace des composés va généralement être dans la gamme de 0,001 ou 0,003 à environ 5 mg/jour, de préférence environ 0,001 ou 0,05 à

2 mg/jour et de préférence encore environ 0,001 ou 0,01 à 1 mg/jour, pour un patient de 70 kg, administrée en une dose unique ou en des doses divisées. La dose exacte à administrer est déterminée par le médecin traitant et dépend de la place que le composé particulier occupe dans la gamme précitée, ainsi que de l'âge, du poids et de l'état de la personne. L'administration devrait commencer au premier signe de symptômes ou peu après un diagnostic de diabète. L'administration peut être par injection, de préférence sous-cutanée ou intramusculaire. Les composés actifs oralement peuvent être pris oralement, cependant les posologies devraient être augmentées de 5 à 10 fois.

Généralement, lors du traitement ou de la prévention de taux de glycémie postprandiale élevés, inappropriés ou indésirables, les composés de cette invention peuvent être administrés à des patients ayant besoin d'un tel traitement en des gammes posologiques semblables à celles présentées ci-dessus, cependant les composés sont administrés plus fréquemment, par exemple une, deux ou trois fois par jour.

La formulation optimale et le mode d'administration des composés de la présente demande à un patient dépendent de facteurs connus dans la technique, comme la maladie ou l'affection particulière, l'effet souhaité, et la sorte de patient. Bien que les composés soient généralement utilisés pour traiter des patients humains, ils peuvent aussi être utilisés pour traiter des maladies semblables ou identiques chez d'autres vertébrés comme d'autres primates, des animaux de ferme tels que les porcs, les bovins et la volaille, et des animaux de sport et des animaux familiers tels que des chevaux, des chiens et des chats.

Pour faciliter la compréhension de la présente invention, les exemples suivants sont inclus. Les expériences se rapportant à cette invention ne doivent bien

entendu pas être interprétées comme limitant spécifiquement l'invention et de telles variations de l'invention, connues maintenant ou développées ultérieurement, qui seraient du ressort de l'homme du métier sont considérées comme entrant dans le cadre de l'invention telle que décrite ici et revendiquée ci-après.

EXEMPLE 1

L'étude suivante a été effectuée pour examiner les effets de l'exendine-3 et de l'exendine-4 sur la vidange gastrique et pour comparer les effets avec un traitement par GLP-1[7-36]NH_2 chez le rat. Cette expérience a suivi une modification du procédé de Scarpignato *et al., Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.* 246 : 286-294 (1980).

Des rats Harlan Sprague Dawley (HSD) mâles ont été utilisés. Tous les animaux ont été logés à 22,7±0,8 °C dans un cycle de lumière:obscurité de 12:12 heures (les expériences étant réalisées pendant le cycle de lumière) et ont eu accès à des aliments et de l'eau à volonté (*Diet LM-485,* Teklad, Madison, WI). L'exendine-3 et l'exendine-4 ont été synthétisées d'après des procédés de synthèse peptidique standards.

La détermination de la vidange gastrique par le procédé décrit ci-après a été effectuée après un jeûne de ~20 heures pour assurer que l'estomac ne contenait pas de chyme qui gênerait les mesures d'absorbance spectrophotométriques.

Des rats conscients ont reçu par gavage 1,5 ml d'un gel acalorique contenant 1,5 % de méthylcellulose (M-0262, *Sigma Chemical Co.,* St. Louis, MO) et 0,05 % d'indicateur au rouge de phénol. Vingt minutes après le gavage, les rats ont été anesthésiés en utilisant du halothane à 5 %, l'estomac exposé et pincé aux sphincters pylorique et inférieur de l'oesophage en utilisant des pinces à artère,

enlevé et déversé dans une solution alcaline qui était complétée à un volume fixe. Le contenu stomacal a été déduit de l'intensité du rouge de phénol dans la solution alcaline, mesurée par absorbance à une longueur d'onde de 560 nm. Dans des expériences séparées sur 7 rats, l'estomac et l'intestin grêle ont été tous les deux excisés et déversés dans une solution alcaline. La quantité de rouge de phénol qui a pu être récupérée du tube digestif supérieur en l'espace de 20 minutes après le gavage était de 89±4 % ; le colorant qui paraissait lié de façon non recouvrable à la surface de la lumière intestinale pourrait représenter le reste. Pour expliquer une récupération maximale de colorant inférieure à 100 %, le pourcentage de contenu stomacal restant après 20 min. a été exprimé en tant que fraction du contenu gastrique récupéré de rats témoins sacrifiés immédiatement après gavage dans la même expérience. Le pourcentage de contenu gastrique restant = (absorbance à 20 min.)/(absorbance à 0 mm) x 100.

Dans des études de ligne de base, sans traitement médicamenteux, la vidange gastrique sur 20 min. a été déterminée. Dans des études dose-réponse, des rats ont été traités avec 0, 0,01, 0,1, 0,3, 1, 5, 10 ou 100 µg d'exendine 3, d'exendine 4 ou de GLP-1(7-36)NH_2. Les résultats sont présentés à la figure 2. La figure 2 montre que les exendines 3 et 4 ont inhibé la vidange gastrique avec approximativement la même DE_{50} de 0,1 µg, alors que GLP-1(7-36)NH_2 a une DE_{50} d'approximativement 9 µg, indiquant que les exendines sont ~90 fois plus puissantes que GLP-1 à inhiber la vidange gastrique.

Comme le montre le tableau I, l'exendine-3 et l'exendine-4 se sont révélées être de puissants inhibiteurs de la vidange gastrique. L'effet d'amyline de rat sur la vidange gastrique est aussi fourni en tant que second

témoin positif et à des fins comparatives.

TABLEAU I

Dose µg	GLP-1(7-36)NH_2		Exendine-3		Exendine-4		Amyline de rat	
	% restant *(n)	SEM	% restant *(n)	SEM	% restant *(n)	SEM	% restant *(n)	SEM
Témoin salin	48,00 (16)	3,50	46,760 (15)	2,360	46,000 (17)	2,000	48,00 (17)	3,5
0,010	pas de données		58,240 (3)	3,180	pas de données	2,000	37,60 (2)	2,50
0,100	42,00 (7)	6,50	70,770 (3)	5,600	72,000 (3)	12,000	52,70 (6)	6,30
0,300	29,60 (7)	3,50	86,420 (3)	6,160	98,000 (2)	4,000	88,20 (4)	3,00
1,000	37,20 (9)	2,70	95,330 (3)	0,790	105,000 (1)	0,000	96,80 (9)	2,80
3,000	56,60 (10)	6,10					108,00 (4)	2,70
10,000	87,90 (11)	2,70	101,760 (3)	3,390	112,000 (3)	2,000	101,10 (6)	3,60
100,000	103,60 (7)	2,80	103,640 (3)	2,260	103,000 (3)	3,000	101,20 (2)	2,80

* pourcentage de contenu gastrique restant 20 minutes après gavage.

EXEMPLE 2

Les effets d'analogues d'exendine-4 sur l'inhibition de la vidange gastrique ont été examinés et comparés aux effets de l'exendine-4, d'après les procédés décrits dans l'exemple 1. Des rats HSD mâles ont été traités avec 0,01, 0,1, 0,3, 1, 10 et 100 µg d'exendine-4, 0,01, 0,03, 0,1, 1, 10 et 100 µg d'exendine-4 acide, et 0,1, 0,3, 1, 10 et 100 µg de ^{14}Leu,^{25}Phe exendine-4. L'exendine-3, l'exendine-4 acide et ^{14}Leu,^{25}Phe ont été synthétisés d'après des procédés de synthèse peptidique standards. Les résultats, présentés à la figure 3 et au tableau II, montrent que les agonistes d'exendine, l'exendine-4 acide et ^{14}Leu,^{25}Phe exendine-4, sont de puissants inhibiteurs de la vidange gastrique. La CE_{50} de l'exendine-4 était de 0,27 µg. Les CE_{50} de l'exendine-4 acide et de ^{14}Leu,^{25}Phe exendine-4 étaient comparables (0,12 µg et 0,29 µg, respectivement).

TABLEAU II

Composé	CE_{50} (µg)
exendine-4	0,27
exendine-4 acide	0,12
^{14}Leu,^{25}Phe exendine-4	0,29

EXEMPLE 3

L'aptitude de l'exendine[9-39], un antagoniste des effets de l'exendine au récepteur GLP-1 cloné, à antagoniser l'effet d'inhibition de la vidange gastrique de l'exendine-4 et de GLP-1[7-36]NH_2 a été examinée d'après les procédés décrits dans l'exemple 1. Des rats ont été traités avec 1,0 µg d'exendine-4, 1,0 µg d'exendine-4 avec 0,3 mg d'exendine[9-39], 10 µg de GLP-1[7-36]NH_2, 10 µg de GLP-1[7-36]NH_2 avec 0,3 mg d'exendine[9-39] ou avec 0,3 mg d'exendine 9-39 seule. Dans ces études, l'exendine[9-39] a été administrée à la fois par voie sous-cutanée (sc) et par voie intraveineuse (iv). Les résultats de ces expériences sont présentés aux figures 4 à 7.

Comme le montrent les figures 4 et 5, après 20 minutes, les animaux traités avec l'exendine-4 ont présenté une inhibition extrêmement puissante de la vidange gastrique, qui n'a pas été inversée par l'exendine[9-39]. Cela s'est produit que l'exendine[9-39] soit administrée sc ou iv. L'exendine[9-39] seule n'a pas eu d'effet sur la vidange gastrique.

Comme décrit ci-dessus, l'exendine[9-39] est un antagoniste puissant de GLP-1 qui se lie au récepteur GLP-1 cloné (Fehmann HC *et al.*, *Peptides* 15(3) : 453-456, 1994 ; Thorens B *et al.*, *Diabetes* 42(11) : 1678-1682, 1993). Curieusement, cependant, l'exendine[9-39] n'a pas bloqué l'effet de l'exendine-4 sur la vidange gastrique (voir figures 4 et 5). Ces résultats indiquent que les effets des exendines sur la vidange gastrique ne sont pas dus à la

liaison des exendines au récepteur GLP-1 cloné, mais en fait que les effets des exendines sur la vidange gastrique sont dus à un récepteur différent.

Le fait que l'exendine[9-39] n'a pas bloqué l'effet de GLP-1[7-36]NH_2 sur la vidange gastrique (voir figures 6 et 7) indique que, dans ses effets sur la vidange gastrique, GLP-1 agit aussi à un récepteur autre que le récepteur GLP-1 cloné (auquel l'exendine[9-39] est un antagoniste puissant).

EXEMPLE 4

Préparation d'un peptide amidé ayant la SEQ. ID. NO. [5]

Le peptide identifié ci-dessus a été assemblé sur une résine MBHA 4-(2'-4'-diméthoxyphényl)-Fmoc aminométhyl phénoxy acétamide norleucine (*Novabiochem,* 0,55 mmole/g) en utilisant des acides aminés à protection Fmoc (*Applied Biosystems, Inc.*). En général, des cycles de couplage unique ont été utilisés tout au long de la synthèse et un procédé chimique Fast Moc (activation HBTU) a été employé. Cependant, à certaines positions, le couplage était moins efficace que prévu et des couplages doubles ont été requis. En particulier, les résidus Asp_9, Thr_7 et Phe_6 ont tous nécessité un couplage double. Une déprotection (enlèvement du groupe Fmoc) de la chaîne peptidique en croissance en utilisant de la pipéridine n'était pas toujours efficace. Une déprotection double a été requise aux positions Arg_{20}, Val_{19} et Leu_{14}. Une déprotection finale de la résine peptidique achevée a été obtenue en utilisant un mélange de triéthylsilane (0,2 ml), d'éthanedithiol (0,2 ml), d'anisole (0,2 ml), d'eau (0,2 ml) et d'acide trifluoro-acétique (15 ml) d'après des procédés standards (*Introduction to Cleavage Techniques, Applied Biosystems, Inc.*). Le peptide a été précipité dans de l'éther/eau

(50 ml) et centrifugé. Le précipité a été reconstitué dans de l'acide acétique glacial et lyophilisé. Le peptide lyophilisé a été dissous dans de l'eau. La pureté du produit brut était d'environ 55 %.

On a utilisé dans les étapes de purification et l'analyse le solvant A (TFA à 0,1 % dans de l'eau) et le solvant B (TFA à 0,1 % dans ACN).

La solution contenant le peptide a été appliquée à une colonne C-18 préparative et purifiée (solvant B à 10 % à 40 % dans le solvant A sur 40 minutes). La pureté des fractions a été déterminée isocratiquement en utilisant une colonne analytique C-18. Les fractions pures ont été regroupées, fournissant le peptide identifié ci-dessus. Une RP-CLHP analytique (gradient solvant B à 30 % à 60 % dans le solvant A sur 30 minutes) du peptide lyophilisé a donné un produit peptidique ayant un temps de séjour constaté de 14,5 minutes. Spectrométrie de masse à électrospray (M) : calculée 4131,7 ; trouvée 4129,3.

EXEMPLE 5

Préparation d'un peptide ayant la SEQ. ID. NO. [6]

Le peptide identifié ci-dessus a été assemblé sur de la résine MBHA 4-(2'-4'-diméthoxyphényl)-Fmoc aminométhyl phénoxy acétamide norleucine (*Novabiochem,* 0,55 mmole/g) en utilisant des acides aminés à protection Fmoc (*Applied Biosystems, Inc.*), clivé de la résine, déprotégé et purifié d'une façon semblable à l'exemple 4. On a utilisé dans l'analyse le Solvant A (TFA à 0,1 % dans de l'eau) et le Solvant B (TFA à 0,1 % dans ACN). Une RP-CLHP analytique (gradient 25 % à 75 % de Solvant B dans le Solvant A sur 30 minutes) du peptide lyophilisé a donné le produit peptidique ayant un temps de séjour constaté de 21,5 minutes. Spectrométrie de masse à électrospray (M) : calculée 4168,6 ; trouvée 4171,2.

EXEMPLE 6

Préparation d'un peptide ayant la SEQ. ID. NO. [7]

Le peptide identifié ci-dessus a été assemblé sur de la résine MBHA 4-(2'-4'-diméthoxyphényl)-Fmoc aminométhyl phénoxy acétamide norleucine (*Novabiochem,* 0,55 mmole/g) en utilisant des acides aminés à protection Fmoc (*Applied Biosystems, Inc.*), clivé de la résine, déprotégé et purifié d'une façon semblable à l'exemple 4. On a utilisé dans l'analyse le Solvant A (TFA à 0,1 % dans de l'eau) et le Solvant B (TFA à 0,1 % dans ACN). Une RP-CLHP analytique (gradient 30 % à 60 % de Solvant B dans le Solvant A sur 30 minutes) du peptide lyophilisé a donné le produit peptidique ayant un temps de séjour constaté de 17,9 minutes. Spectrométrie de masse à électrospray (M) : calculée 4147,6 ; trouvée 4150,2.

EXEMPLE 7

Préparation d'un peptide ayant la SEQ. ID. NO. [8]

Le peptide identifié ci-dessus a été assemblé sur de la résine MBHA 4-(2'-4'-diméthoxyphényl)-Fmoc aminométhyl phénoxy acétamide norleucine (*Novabiochem,* 0,55 mmole/g) en utilisant des acides aminés à protection Fmoc (*Applied Biosystems, Inc.*), clivé de la résine, déprotégé et purifié d'une façon semblable à l'exemple 4. On a utilisé dans l'analyse le Solvant A (TFA à 0,1 % dans de l'eau) et le Solvant B (TFA à 0,1 % dans ACN). Une RP-CLHP analytique (gradient 35 % à 65 % de Solvant B dans le Solvant A sur 30 minutes) du peptide lyophilisé a donné le produit peptidique ayant un temps de séjour constaté de 19,7 minutes. Spectrométrie de masse à électrospray (M) : calculée 4212,6 ; trouvée 4213,2.

EXEMPLE 8

Préparation d'un peptide ayant la SEQ. ID. NO. [9]

Le peptide identifié ci-dessus a été assemblé sur de la

résine MBHA 4-(2'-4'-diméthoxyphényl)-Fmoc aminométhyl phénoxy acétamide norleucine (*Novabiochem,* 0,55 mmole/g) en utilisant des acides aminés à protection Fmoc (*Applied Biosystems, Inc.*), clivé de la résine, déprotégé et purifié d'une façon semblable à l'exemple 4. On a utilisé dans l'analyse le Solvant A (TFA à 0,1 % dans de l'eau) et le Solvant B (TFA à 0,1 % dans ACN). Une RP-CLHP analytique (gradient 30 % à 50 % de Solvant B dans le Solvant A sur 30 minutes) du peptide lyophilisé a donné le produit peptidique ayant un temps de séjour constaté de 16,3 minutes. Spectrométrie de masse à électrospray (M) : calculée 4262,7 ; trouvée 4262,4.

EXEMPLE 9

Préparation d'un peptide ayant la SEQ. ID. NO. [10]

Le peptide identifié ci-dessus est assemblé sur de la résine MBHA 4-(2'-4'-diméthoxyphényl)-Fmoc aminométhyl phénoxy acétamide norleucine (*Novabiochem,* 0,55 mmole/g) en utilisant des acides aminés à protection Fmoc (*Applied Biosystems, Inc.*), clivé de la résine, déprotégé et purifié d'une façon semblable à l'exemple 4. On utilise dans l'analyse le Solvant A (TFA à 0,1 % dans de l'eau) et le Solvant B (TFA à 0,1 % dans ACN). Une RP-CLHP analytique (gradient 30 % à 60 % de Solvant B dans le Solvant A sur 30 minutes) du peptide lyophilisé est ensuite effectuée pour déterminer le temps de séjour du produit peptidique. Spectrométrie de masse à électrospray (M) : calculée 4172,6.

EXEMPLE 10

Préparation d'un peptide ayant la SEQ. ID. NO. [11]

Le peptide identifié ci-dessus est assemblé sur de la résine MBHA 4-(2'-4'-diméthoxyphényl)-Fmoc aminométhyl phénoxy acétamide norleucine (*Novabiochem,* 0,55 mmole/g) en utilisant des acides aminés à protection Fmoc (*Applied*

Biosystems, Inc.), clivé de la résine, déprotégé et purifié d'une façon semblable à l'exemple 4. On utilise dans l'analyse le Solvant A (TFA à 0,1 % dans de l'eau) et le Solvant B (TFA à 0,1 % dans ACN). Une RP-CLHP analytique (gradient 30 % à 60 % de Solvant B dans le Solvant A sur 30 minutes) du peptide lyophilisé est ensuite effectuée pour déterminer le temps de séjour du produit peptidique. Spectrométrie de masse à électrospray (M) : calculée 4224,7.

EXEMPLE 11

Préparation d'un peptide ayant la SEQ. ID. NO. [12]

Le peptide identifié ci-dessus est assemblé sur de la résine MBHA 4-(2'-4'-diméthoxyphényl)-Fmoc aminométhyl phénoxy acétamide norleucine (*Novabiochem*, 0,55 mmole/g) en utilisant des acides aminés à protection Fmoc (*Applied Biosystems, Inc.*), clivé de la résine, déprotégé et purifié d'une façon semblable à l'exemple 4. On utilise dans l'analyse le Solvant A (TFA à 0,1 % dans de l'eau) et le Solvant B (TFA à 0,1 % dans ACN). Une RP-CLHP analytique (gradient 30 % à 60 % de Solvant B dans le Solvant A sur 30 minutes) du peptide lyophilisé est ensuite effectuée pour déterminer le temps de séjour du produit peptidique. Spectrométrie de masse à électrospray (M) : calculée 4172,6.

EXEMPLE 12

Préparation d'un peptide ayant la SEQ. ID. NO. [13]

Le peptide identifié ci-dessus est assemblé sur de la résine MBHA 4-(2'-4'-diméthoxyphényl)-Fmoc aminométhyl phénoxy acétamide norleucine (*Novabiochem*, 0,55 mmole/g) en utilisant des acides aminés à protection Fmoc (*Applied Biosystems, Inc.*), clivé de la résine, déprotégé et purifié d'une façon semblable à l'exemple 4. On utilise dans l'analyse le Solvant A (TFA à 0,1 % dans de l'eau) et le

Solvant B (TFA à 0,1 % dans ACN). Une RP-CLHP analytique (gradient 30 % à 60 % de Solvant B dans le Solvant A sur 30 minutes) du peptide lyophilisé est ensuite effectuée pour déterminer le temps de séjour du produit peptidique. Spectrométrie de masse à électrospray (M) : calculée 4186,6.

EXEMPLE 13

Préparation d'un peptide ayant la SEQ. ID. NO. [14]

Le peptide identifié ci-dessus est assemblé sur de la résine MBHA 4-(2'-4'-diméthoxyphényl)-Fmoc aminométhyl phénoxy acétamide norleucine (*Novabiochem,* 0,55 mmole/g) en utilisant des acides aminés à protection Fmoc (*Applied Biosystems, Inc.*), clivé de la résine, déprotégé et purifié d'une façon semblable à l'exemple 4. On utilise dans l'analyse le Solvant A (TFA à 0,1 % dans de l'eau) et le Solvant B (TFA à 0,1 % dans ACN). Une RP-CLHP analytique (gradient 30 % à 60 % de Solvant B dans le Solvant A sur 30 minutes) du peptide lyophilisé est ensuite effectuée pour déterminer le temps de séjour du produit peptidique. Spectrométrie de masse à électrospray (M) : calculée 4200,7.

EXEMPLE 14

Préparation d'un peptide ayant la SEQ. ID. NO. [15]

Le peptide identifié ci-dessus est assemblé sur de la résine MBHA 4-(2'-4'-diméthoxyphényl)-Fmoc aminométhyl phénoxy acétamide norleucine (*Novabiochem,* 0,55 mmole/g) en utilisant des acides aminés à protection Fmoc (*Applied Biosystems, Inc.*), clivé de la résine, déprotégé et purifié d'une façon semblable à l'exemple 4. On utilise dans l'analyse le Solvant A (TFA à 0,1 % dans de l'eau) et le Solvant B (TFA à 0,1 % dans ACN). Une RP-CLHP analytique (gradient 30 % à 60 % de Solvant B dans le Solvant A sur 30 minutes) du peptide lyophilisé est ensuite effectuée

pour déterminer le temps de séjour du produit peptidique. Spectrométrie de masse à électrospray (M) : calculée 4200,7.

EXEMPLE 15

Préparation d'un peptide ayant la SEQ. ID. NO. [16]

Le peptide identifié ci-dessus est assemblé sur de la résine MBHA 4-(2'-4'-diméthoxyphényl)-Fmoc aminométhyl phénoxy acétamide norleucine (*Novabiochem,* 0,55 mmole/g) en utilisant des acides aminés à protection Fmoc (*Applied Biosystems, Inc.*), clivé de la résine, déprotégé et purifié d'une façon semblable à l'exemple 4. On utilise dans l'analyse le Solvant A (TFA à 0,1 % dans de l'eau) et le Solvant B (TFA à 0,1 % dans ACN). Une RP-CLHP analytique (gradient 30 % à 60 % de Solvant B dans le Solvant A sur 30 minutes) du peptide lyophilisé est ensuite effectuée pour déterminer le temps de séjour du produit peptidique. Spectrométrie de masse à électrospray (M) : calculée 4202,7.

EXEMPLE 16

Préparation d'un peptide ayant la SEQ. ID. NO. [17]

Le peptide identifié ci-dessus est assemblé sur de la résine MBHA 4-(2'-4'-diméthoxyphényl)-Fmoc aminométhyl phénoxy acétamide norleucine (*Novabiochem,* 0,55 mmole/g) en utilisant des acides aminés à protection Fmoc (*Applied Biosystems, Inc.*), clivé de la résine, déprotégé et purifié d'une façon semblable à l'exemple 4. On utilise dans l'analyse le Solvant A (TFA à 0,1 % dans de l'eau) et le Solvant B (TFA à 0,1 % dans ACN). Une RP-CLHP analytique (gradient 30 % à 60 % de Solvant B dans le Solvant A sur 30 minutes) du peptide lyophilisé est ensuite effectuée pour déterminer le temps de séjour du produit peptidique. Spectrométrie de masse à électrospray (M) : calculée 4145,6.

EXEMPLE 17

Préparation d'un peptide ayant la SEQ. ID. NO. [18]

Le peptide identifié ci-dessus est assemblé sur de la résine MBHA 4-(2'-4'-diméthoxyphényl)-Fmoc aminométhyl phénoxy acétamide norleucine (*Novabiochem,* 0,55 mmole/g) en utilisant des acides aminés à protection Fmoc (*Applied Biosystems, Inc.*), clivé de la résine, déprotégé et purifié d'une façon semblable à l'exemple 4. On utilise dans l'analyse le Solvant A (TFA à 0,1 % dans de l'eau) et le Solvant B (TFA à 0,1 % dans ACN). Une RP-CLHP analytique (gradient 30 % à 60 % de Solvant B dans le Solvant A sur 30 minutes) du peptide lyophilisé est ensuite effectuée pour déterminer le temps de séjour du produit peptidique. Spectrométrie de masse à électrospray (M) : calculée 4184,6.

EXEMPLE 18

Préparation d'un peptide ayant la SEQ. ID. NO. [19]

Le peptide identifié ci-dessus est assemblé sur de la résine MBHA 4-(2'-4'-diméthoxyphényl)-Fmoc aminométhyl phénoxy acétamide norleucine (*Novabiochem,* 0,55 mmole/g) en utilisant des acides aminés à protection Fmoc (*Applied Biosystems, Inc.*), clivé de la résine, déprotégé et purifié d'une façon semblable à l'exemple 4. On utilise dans l'analyse le Solvant A (TFA à 0,1 % dans de l'eau) et le Solvant B (TFA à 0,1 % dans ACN). Une RP-CLHP analytique (gradient 30 % à 60 % de Solvant B dans le Solvant A sur 30 minutes) du peptide lyophilisé est ensuite effectuée pour déterminer le temps de séjour du produit peptidique. Spectrométrie de masse à électrospray (M) : calculée 4145,6.

EXEMPLE 19

Préparation d'un peptide ayant la SEQ. ID. NO. [20]

Le peptide identifié ci-dessus est assemblé sur de la

résine MBHA 4-(2'-4'-diméthoxyphényl)-Fmoc aminométhyl phénoxy acétamide norleucine (*Novabiochem,* 0,55 mmole/g) en utilisant des acides aminés à protection Fmoc (*Applied Biosystems, Inc.*), clivé de la résine, déprotégé et purifié d'une façon semblable à l'exemple 4. On utilise dans l'analyse le Solvant A (TFA à 0,1 % dans de l'eau) et le Solvant B (TFA à 0,1 % dans ACN). Une RP-CLHP analytique (gradient 30 % à 60 % de Solvant B dans le Solvant A sur 30 minutes) du peptide lyophilisé est ensuite effectuée pour déterminer le temps de séjour du produit peptidique. Spectrométrie de masse à électrospray (M) : calculée 4224,7.

EXEMPLE 20

Préparation d'un peptide ayant la SEQ. ID. NO. [21]

Le peptide identifié ci-dessus est assemblé sur de la résine MBHA 4-(2'-4'-diméthoxyphényl)-Fmoc aminométhyl phénoxy acétamide norleucine (*Novabiochem,* 0,55 mmole/g) en utilisant des acides aminés à protection Fmoc (*Applied Biosystems, Inc.*), clivé de la résine, déprotégé et purifié d'une façon semblable à l'exemple 4. On utilise dans l'analyse le Solvant A (TFA à 0,1 % dans de l'eau) et le Solvant B (TFA à 0,1 % dans ACN). Une RP-CLHP analytique (gradient 30 % à 60 % de Solvant B dans le Solvant A sur 30 minutes) du peptide lyophilisé est ensuite effectuée pour déterminer le temps de séjour du produit peptidique. Spectrométrie de masse à électrospray (M) : calculée 4172,6.

EXEMPLE 21

Préparation d'un peptide ayant la SEQ. ID. NO. [22]

Le peptide identifié ci-dessus est assemblé sur de la résine MBHA 4-(2'-4'-diméthoxyphényl)-Fmoc aminométhyl phénoxy acétamide norleucine (*Novabiochem,* 0,55 mmole/g) en utilisant des acides aminés à protection Fmoc (*Applied*

Biosystems, Inc.), clivé de la résine, déprotégé et purifié d'une façon semblable à l'exemple 4. On utilise dans l'analyse le Solvant A (TFA à 0,1 % dans de l'eau) et le Solvant B (TFA à 0,1 % dans ACN). Une RP-CLHP analytique (gradient 30 % à 60 % de Solvant B dans le Solvant A sur 30 minutes) du peptide lyophilisé est ensuite effectuée pour déterminer le temps de séjour du produit peptidique. Spectrométrie de masse à électrospray (M) : calculée 4115,5.

EXEMPLE 22

Préparation d'un peptide ayant la SEQ. ID. NO. [23]

Le peptide identifié ci-dessus est assemblé sur de la résine MBHA 4-(2'-4'-diméthoxyphényl)-Fmoc aminométhyl phénoxy acétamide norleucine (*Novabiochem,* 0,55 mmole/g) en utilisant des acides aminés à protection Fmoc (*Applied Biosystems, Inc.*), clivé de la résine, déprotégé et purifié d'une façon semblable à l'exemple 4. On utilise dans l'analyse le Solvant A (TFA à 0,1 % dans de l'eau) et le Solvant B (TFA à 0,1 % dans ACN). Une RP-CLHP analytique (gradient 30 % à 60 % de Solvant B dans le Solvant A sur 30 minutes) du peptide lyophilisé est ensuite effectuée pour déterminer le temps de séjour du produit peptidique. Spectrométrie de masse à électrospray (M) : calculée 4188,6.

EXEMPLE 23

Préparation d'un peptide ayant la SEQ. ID. NO. [24]

Le peptide identifié ci-dessus est assemblé sur de la résine MBHA 4-(2'-4'-diméthoxyphényl)-Fmoc aminométhyl phénoxy acétamide norleucine (*Novabiochem,* 0,55 mmole/g) en utilisant des acides aminés à protection Fmoc (*Applied Biosystems, Inc.*), clivé de la résine, déprotégé et purifié d'une façon semblable à l'exemple 1. On utilise dans l'analyse le Solvant A (TFA à 0,1 % dans de l'eau) et le

Solvant B (TFA à 0,1 % dans ACN). Une RP-CLHP analytique (gradient 30 % à 60 % de Solvant B dans le Solvant A sur 30 minutes) du peptide lyophilisé est ensuite effectuée pour déterminer le temps de séjour du produit peptidique. Spectrométrie de masse à électrospray (M) : calculée 4131,6.

EXEMPLE 24

Préparation d'un peptide ayant la SEQ. ID. NO. [25]

Le peptide identifié ci-dessus est assemblé sur de la résine MBHA 4-(2'-4'-diméthoxyphényl)-Fmoc aminométhyl phénoxy acétamide norleucine (*Novabiochem,* 0,55 mmole/g) en utilisant des acides aminés à protection Fmoc (*Applied Biosystems, Inc.*), clivé de la résine, déprotégé et purifié d'une façon semblable à l'exemple 1. On utilise dans l'analyse le Solvant A (TFA à 0,1 % dans de l'eau) et le Solvant B (TFA à 0,1 % dans ACN). Une RP-CLHP analytique (gradient 30 % à 60 % de Solvant B dans le Solvant A sur 30 minutes) du peptide lyophilisé est ensuite effectuée pour déterminer le temps de séjour du produit peptidique. Spectrométrie de masse à électrospray (M) : calculée 4172,6.

EXEMPLE 25

Préparation d'un peptide ayant la SEQ. ID. NO. [26]

Le peptide identifié ci-dessus est assemblé sur de la résine MBHA 4-(2'-4'-diméthoxyphényl)-Fmoc aminométhyl phénoxy acétamide norleucine (*Novabiochem,* 0,55 mmole/g) en utilisant des acides aminés à protection Fmoc (*Applied Biosystems, Inc.*), clivé de la résine, déprotégé et purifié d'une façon semblable à l'exemple 1. On utilise dans l'analyse le Solvant A (TFA à 0,1 % dans de l'eau) et le Solvant B (TFA à 0,1 % dans ACN). Une RP-CLHP analytique (gradient 30 % à 60 % de Solvant B dans le Solvant A sur 30 minutes) du peptide lyophilisé est ensuite effectuée

pour déterminer le temps de séjour du produit peptidique. Spectrométrie de masse à électrospray (M) : calculée 4145,6.

EXEMPLE 26

Préparation d'un peptide ayant la SEQ. ID. NO. [27]

Le peptide identifié ci-dessus est assemblé sur de la résine MBHA 4-(2'-4'-diméthoxyphényl)-Fmoc aminométhyl phénoxy acétamide norleucine (*Novabiochem,* 0,55 mmole/g) en utilisant des acides aminés à protection Fmoc (*Applied Biosystems, Inc.*), clivé de la résine, déprotégé et purifié d'une façon semblable à l'exemple 1. Des couplages doubles supplémentaires sont requis aux positions de thioproline 38, 37, 36 et 31. On utilise dans l'analyse le Solvant A (TFA à 0,1 % dans de l'eau) et le Solvant B (TFA à 0,1 % dans ACN). Une RP-CLHP analytique (gradient 30 % à 60 % de Solvant B dans le Solvant A sur 30 minutes) du peptide lyophilisé est ensuite effectuée pour déterminer le temps de séjour du produit peptidique. Spectrométrie de masse à électrospray (M) : calculée 4266,8.

EXEMPLE 27

Préparation d'un peptide ayant la SEQ. ID. NO. [28]

Le peptide identifié ci-dessus est assemblé sur de la résine MBHA 4-(2'-4'-diméthoxyphényl)-Fmoc aminométhyl phénoxy acétamide norleucine (*Novabiochem,* 0,55 mmole/g) en utilisant des acides aminés à protection Fmoc (*Applied Biosystems, Inc.*), clivé de la résine, déprotégé et purifié d'une façon semblable à l'exemple 1. Des couplages doubles supplémentaires sont requis aux positions de thioproline 38, 37 et 36. On utilise dans l'analyse le Solvant A (TFA à 0,1 % dans de l'eau) et le Solvant B (TFA à 0,1 % dans ACN). Une RP-CLHP analytique (gradient 30 % à 60 % de Solvant B dans le Solvant A sur 30 minutes) du peptide lyophilisé est ensuite effectuée pour déterminer le temps

de séjour du produit peptidique. Spectrométrie de masse à électrospray (M) : calculée 4246,8.

EXEMPLE 28

Préparation d'un peptide ayant la SEQ. ID. NO. [29]

Le peptide identifié ci-dessus est assemblé sur de la résine MBHA 4-(2'-4'-diméthoxyphényl)-Fmoc aminométhyl phénoxy acétamide norleucine (*Novabiochem,* 0,55 mmole/g) en utilisant des acides aminés à protection Fmoc (*Applied Biosystems, Inc.*), clivé de la résine, déprotégé et purifié d'une façon semblable à l'exemple 1. Des couplages doubles supplémentaires sont requis aux positions d'homoproline 38, 37, 36 et 31. On utilise dans l'analyse le Solvant A (TFA à 0,1 % dans de l'eau) et le Solvant B (TFA à 0,1 % dans ACN). Une RP-CLHP analytique (gradient 30 % à 60 % de Solvant B dans le Solvant A sur 30 minutes) du peptide lyophilisé est ensuite effectuée pour déterminer le temps de séjour du produit peptidique. Spectrométrie de masse à électrospray (M) : calculée 4250,8.

EXEMPLE 29

Préparation d'un peptide ayant la SEQ. ID. NO. [30]

Le peptide identifié ci-dessus est assemblé sur de la résine MBHA 4-(2'-4'-diméthoxyphényl)-Fmoc aminométhyl phénoxy acétamide norleucine (*Novabiochem,* 0,55 mmole/g) en utilisant des acides aminés à protection Fmoc (*Applied Biosystems, Inc.*), clivé de la résine, déprotégé et purifié d'une façon semblable à l'exemple 1. Des couplages doubles supplémentaires sont requis aux positions d'homoproline 38, 37 et 36. On utilise dans l'analyse le Solvant A (TFA à 0,1 % dans de l'eau) et le Solvant B (TFA à 0,1 % dans ACN). Une RP-CLHP analytique (gradient 30 % à 60 % de Solvant B dans le Solvant A sur 30 minutes) du peptide lyophilisé est ensuite effectuée pour déterminer le temps de séjour du produit peptidique. Spectrométrie de masse à

électrospray (M) : calculée 4234,8.

EXEMPLE 30

Préparation d'un peptide ayant la SEQ. ID. NO. [31]

Le peptide identifié ci-dessus est assemblé sur de la résine MBHA 4-(2'-4'-diméthoxyphényl)-Fmoc aminométhyl phénoxy acétamide norleucine (*Novabiochem,* 0,55 mmole/g) en utilisant des acides aminés à protection Fmoc (*Applied Biosystems, Inc.*), clivé de la résine, déprotégé et purifié d'une façon semblable à l'exemple 1. Des couplages doubles supplémentaires sont requis aux positions de thioproline 38, 37, 36 et 31. On utilise dans l'analyse le Solvant A (TFA à 0,1 % dans de l'eau) et le Solvant B (TFA à 0,1 % dans ACN). Une RP-CLHP analytique (gradient 30 % à 60 % de Solvant B dans le Solvant A sur 30 minutes) du peptide lyophilisé est ensuite effectuée pour déterminer le temps de séjour du produit peptidique. Spectrométrie de masse à électrospray (M) : calculée 4209,8.

EXEMPLE 31

Préparation d'un peptide ayant la SEQ. ID. NO. [32]

Le peptide identifié ci-dessus est assemblé sur de la résine MBHA 4-(2'-4'-diméthoxyphényl)-Fmoc aminométhyl phénoxy acétamide norleucine (*Novabiochem,* 0,55 mmole/g) en utilisant des acides aminés à protection Fmoc (*Applied Biosystems, Inc.*), clivé de la résine, déprotégé et purifié d'une façon semblable à l'exemple 1. Des couplages doubles supplémentaires sont requis aux positions d'homoproline 38, 37, 36 et 31. On utilise dans l'analyse le Solvant A (TFA à 0,1 % dans de l'eau) et le Solvant B (TFA à 0,1 % dans ACN). Une RP-CLHP analytique (gradient 30 % à 60 % de Solvant B dans le Solvant A sur 30 minutes) du peptide lyophilisé est ensuite effectuée pour déterminer le temps de séjour du produit peptidique. Spectrométrie de masse à électrospray (M) : calculée 4193,7.

EXEMPLE 32

Préparation d'un peptide ayant la SEQ. ID. NO. [33]

Le peptide identifié ci-dessus est assemblé sur de la résine MBHA 4-(2'-4'-diméthoxyphényl)-Fmoc aminométhyl phénoxy acétamide norleucine (*Novabiochem,* 0,55 mmole/g) en utilisant des acides aminés à protection Fmoc (*Applied Biosystems, Inc.*), clivé de la résine, déprotégé et purifié d'une façon semblable à l'exemple 1. Des couplages doubles supplémentaires sont requis aux positions de N-méthyl-alanine 38, 37, 36 et 31. On utilise dans l'analyse le Solvant A (TFA à 0,1 % dans de l'eau) et le Solvant B (TFA à 0,1 % dans ACN). Une RP-CLHP analytique (gradient 30 % à 60 % de Solvant B dans le Solvant A sur 30 minutes) du peptide lyophilisé est ensuite effectuée pour déterminer le temps de séjour du produit peptidique. Spectrométrie de masse à électrospray (M) : calculée 3858,2.

EXEMPLE 33

Préparation d'un peptide ayant la SEQ. ID. NO. [34]

Le peptide identifié ci-dessus est assemblé sur de la résine MBHA 4-(2'-4'-diméthoxyphényl)-Fmoc aminométhyl phénoxy acétamide norleucine (*Novabiochem,* 0,55 mmole/g) en utilisant des acides aminés à protection Fmoc (*Applied Biosystems, Inc.*), clivé de la résine, déprotégé et purifié d'une façon semblable à l'exemple 1. Des couplages doubles supplémentaires sont requis aux positions de N-méthyl-alanine 38, 37 et 36. On utilise dans l'analyse le Solvant A (TFA à 0,1 % dans de l'eau) et le Solvant B (TFA à 0,1 % dans ACN). Une RP-CLHP analytique (gradient 30 % à 60 % de Solvant B dans le Solvant A sur 30 minutes) du peptide lyophilisé est ensuite effectuée pour déterminer le temps de séjour du produit peptidique. Spectrométrie de masse à électrospray (M) : calculée 3940,3.

EXEMPLE 34

Préparation d'un peptide ayant la SEQ. ID. NO. [35]

Le peptide identifié ci-dessus est assemblé sur de la résine MBHA 4-(2'-4'-diméthoxyphényl)-Fmoc aminométhyl phénoxy acétamide norleucine (*Novabiochem,* 0,55 mmole/g) en utilisant des acides aminés à protection Fmoc (*Applied Biosystems, Inc.*), clivé de la résine, déprotégé et purifié d'une façon semblable à l'exemple 1. Des couplages doubles supplémentaires sont requis aux positions de N-méthyl-alanine 38, 37, 36 et 31. On utilise dans l'analyse le Solvant A (TFA à 0,1 % dans de l'eau) et le Solvant B (TFA à 0,1 % dans ACN). Une RP-CLHP analytique (gradient 30 % à 60 % de Solvant B dans le Solvant A sur 30 minutes) du peptide lyophilisé est ensuite effectuée pour déterminer le temps de séjour du produit peptidique. Spectrométrie de masse à électrospray (M) : calculée 3801,1.

EXEMPLE 35

Préparation de peptides acides carboxyliques C-terminaux correspondant aux séquences amides C-terminales ci-dessus.

Les peptides identifiés ci-dessus sont assemblés sur la résine dénommée Wang (résine alcool p-alcoxybenzylique (*Bachem,* 0,54 mmole/g)) en utilisant des acides aminés à protection Fmoc (*Applied Biosystems, Inc.*), clivés de la résine, déprotégés et purifiés d'une façon semblable à l'exemple 1. On utilise dans l'analyse le Solvant A (TFA à 0,1 % dans de l'eau) et le Solvant B (TFA à 0,1 % dans ACN). Une RP-CLHP analytique (gradient 30 % à 60 % de Solvant B dans le Solvant A sur 30 minutes) du peptide lyophilisé est ensuite effectuée pour déterminer le temps de séjour du produit peptidique. La spectrométrie de masse à électrospray procure un (M) déterminé expérimentalement.

REVENDICATIONS

1. Utilisation d'une exendine ou d'un analogue agoniste d'exendine dans la fabrication d'un médicament pour l'utilisation dans le traitement d'une maladie ou d'un trouble qui pourrait être amélioré par une diminution de motilité gastro-intestinale ou un retard de la vidange gastrique chez un sujet en ayant besoin, dans laquelle ladite maladie ou ledit trouble est choisi parmi une diverticulite aiguë, un syndrome de chasse postprandiale, une hyperglycémie postprandiale associée à une tolérance au glucose détériorée, une hyperglycémie postprandiale associée à un diabète de type 1 ou une hyperglycémie postprandiale associée à un diabète de type 2 ;

dans laquelle ladite exendine ou ledit analogue agoniste d'exendine procure la réduction de motilité gastrique ou le retard de vidange gastrique, et

dans laquelle ladite exendine ou ledit analogue agoniste d'exendine est un composé peptidique de formule :

1 5 10

Xaa_1 Xaa_2 Xaa_3 Gly Thr Xaa_4 Xaa_5 Xaa_6 Xaa_7 Xaa_8

15 20

Ser Lys Gln Xaa_9 Glu Glu Glu Ala Val Arg Leu

25 30

Xaa_{10} Xaa_{11} Xaa_{12} Xaa_{13} Leu Lys Asn Gly Gly Xaa_{14}

35

Ser Ser Gly Ala Xaa_{15} Xaa_{16} Xaa_{17} Xaa_{18}-Z

dans laquelle Xaa_1 est His, Arg ou Tyr ;

Xaa_2 est Ser, Gly, Ala ou Thr ;

Xaa_3 est Asp ou Glu ;

Xaa_4 est Phe, Tyr ou naphtylalanine ;

Xaa_5 est Thr ou Ser ;

Xaa_6 est Ser ou Thr ;

Xaa_7 est Asp ou Glu ;

Xaa_8 est Leu, Ile, Val, pentylglycine ou Met ;

Xaa_9 est Leu, Ile, pentylglycine, Val ou Met ;

Xaa_{10} est Phe, Tyr ou naphtylalanine ;

Xaa_{11} est Ile, Val, Leu, pentylglycine, tert-butylglycine ou Met ;

Xaa_{12} est Glu ou Asp ;

Xaa_{13} est Trp, Phe, Tyr ou naphtylalanine ;

Xaa_{14}, Xaa_{15}, Xaa_{16} et Xaa_{17} sont indépendamment Pro, homoproline, 3Hyp, 4Hyp, thioproline, N-alkylglycine, N-alkylpentylglycine ou N-alkylalanine ;

Xaa_{18} est Ser, Thr ou Tyr ; et

Z est -OH ou $-NH_2$,

ou d'un sel pharmaceutiquement acceptable de ceux-ci.

2. Utilisation selon la revendication 1, dans laquelle ladite maladie ou ledit trouble est une diverticulite aiguë.

3. Utilisation selon la revendication 1, dans laquelle ladite maladie ou ledit trouble est un syndrome de chasse postprandiale.

4. Utilisation selon la revendication 1, dans laquelle la maladie ou le trouble est une hyperglycémie postprandiale associée à un diabète de type 1.

5. Utilisation selon la revendication 1, dans laquelle la maladie ou le trouble est une hyperglycémie postprandiale associée à un diabète de type 2.

6. Utilisation selon la revendication 1, dans laquelle la maladie ou le trouble est une hyperglycémie postprandiale associée à une tolérance au glucose

détériorée.

7. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 4 à 6, dans laquelle le médicament comprend une quantité de l'exendine ou de l'analogue agoniste d'exendine de façon à administrer une dose de l'exendine ou de l'analogue agoniste d'exendine qui réduit les taux de glucose postprandiaux à pas plus de 9 mM.

8. Utilisation d'une exendine ou d'un analogue agoniste d'exendine dans un mode opératoire de diagnostic gastro-intestinal, dans laquelle ladite exendine ou ledit analogue agoniste d'exendine procure une régulation bénéfique de la motilité gastrointestinale, dans laquelle ladite exendine ou ledit analogue agoniste d'exendine est un composé peptidique de formule :

1 5 10

$Xaa_1\ Xaa_2\ Xaa_3$ Gly Thr $Xaa_4\ Xaa_5\ Xaa_6\ Xaa_7\ Xaa_8$

15 20

Ser Lys Gln Xaa_9 Glu Glu Glu Ala Val Arg Leu

25 30

$Xaa_{10}\ Xaa_{11}\ Xaa_{12}\ Xaa_{13}$ Leu Lys Asn Gly Gly Xaa_{14}

35

Ser Ser Gly Ala $Xaa_{15}\ Xaa_{16}\ Xaa_{17}\ Xaa_{18}$-Z

dans laquelle Xaa_1 est His, Arg ou Tyr ;

Xaa_2 est Ser, Gly, Ala ou Thr ;

Xaa_3 est Asp ou Glu ;

Xaa_4 est Phe, Tyr ou naphtylalanine ;

Xaa_5 est Thr ou Ser ;

Xaa_6 est Ser ou Thr ;

Xaa_7 est Asp ou Glu ;

Xaa_8 est Leu, Ile, Val, pentylglycine ou Met ;

Xaa_9 est Leu, Ile, pentylglycine, Val ou

Met ;

Xaa_{10} est Phe, Tyr ou naphtylalanine ;

Xaa_{11} est Ile, Val, Leu, pentylglycine, tert-butylglycine ou Met ;

Xaa_{12} est Glu ou Asp ;

Xaa_{13} est Trp, Phe, Tyr ou naphtylalanine ;

Xaa_{14}, Xaa_{15}, Xaa_{16} et Xaa_{17} sont indépendamment Pro, homoproline, 3Hyp, 4Hyp, thioproline, N-alkylglycine, N-alkylpentylglycine ou N-alkylalanine ;

Xaa_{18} est Ser, Thr ou Tyr ; et

Z est -OH ou $-NH_2$,

ou d'un sel pharmaceutiquement acceptable de ceux-ci.

9. Utilisation selon la revendication 8, dans laquelle ledit mode opératoire de diagnostic gastro-intestinal est un examen radiologique ou est une imagerie par résonance magnétique.

10. Utilisation d'une exendine ou d'un analogue agoniste d'exendine dans la fabrication d'un médicament pour l'utilisation dans le traitement d'une ingestion de toxine, dans laquelle ladite exendine ou ledit analogue agoniste d'exendine procure une régulation bénéfique de la motilité gastrointestinale, dans laquelle ladite exendine ou ledit analogue agoniste d'exendine est un composé peptidique de formule :

1 5 10

Xaa_1 Xaa_2 Xaa_3 Gly Thr Xaa_4 Xaa_5 Xaa_6 Xaa_7 Xaa_8

15 20

Ser Lys Gln Xaa_9 Glu Glu Glu Ala Val Arg Leu

25 30

Xaa_{10} Xaa_{11} Xaa_{12} Xaa_{13} Leu Lys Asn Gly Gly Xaa_{14}

35

Ser Ser Gly Ala Xaa_{15} Xaa_{16} Xaa_{17} Xaa_{18}-Z

dans laquelle Xaa_1 est His, Arg ou Tyr ;

Xaa_2 est Ser, Gly, Ala ou Thr ;

Xaa_3 est Asp ou Glu ;

Xaa_4 est Phe, Tyr ou naphtylalanine ;

Xaa_5 est Thr ou Ser ;

Xaa_6 est Ser ou Thr ;

Xaa_7 est Asp ou Glu ;

Xaa_8 est Leu, Ile, Val, pentylglycine ou Met ;

Xaa_9 est Leu, Ile, pentylglycine, Val ou Met ;

Xaa_{10} est Phe, Tyr ou naphtylalanine ;

Xaa_{11} est Ile, Val, Leu, pentylglycine, tert-butylglycine ou Met ;

Xaa_{12} est Glu ou Asp ;

Xaa_{13} est Trp, Phe, Tyr ou naphtylalanine ;

Xaa_{14}, Xaa_{15}, Xaa_{16} et Xaa_{17} sont indépendamment Pro, homoproline, 3Hyp, 4Hyp, thioproline, N-alkylglycine, N-alkylpentylglycine ou N-alkylalanine ;

Xaa_{18} est Ser, Thr ou Tyr ; et

Z est -OH ou $-NH_2$,

ou d'un sel pharmaceutiquement acceptable de ceux-ci.

11. Utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes, dans laquelle l'exendine ou l'analogue agoniste d'exendine est administré à une dose d'entre 0,001 mg/70 kg et 1 mg/70 kg par jour en doses uniques ou divisées.

12. Utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes, dans laquelle l'exendine ou l'analogue agoniste d'exendine est administré à une dose d'entre 0,001 mg/70 kg et 1 mg/70 kg une fois, deux fois ou trois fois par jour.

13. Utilisation selon la revendication 11 ou 12, dans laquelle l'exendine ou l'analogue agoniste d'exendine est administré à une dose d'entre 0,001 mg/70 kg et 0,05 mg/70 kg.

14. Utilisation selon la revendication 13, dans laquelle l'exendine ou l'analogue agoniste d'exendine est administré à une dose d'entre 0,001 mg/70 kg et 0,01 mg/70 kg.

15. Utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes, dans laquelle l'exendine ou l'analogue agoniste d'exendine est administré sous la forme d'une composition pharmaceutique comprenant une solution tampon isotonique à un pH de 5,6 à 7,4.

16. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 14, dans laquelle l'exendine ou l'analogue agoniste d'exendine est administré sous la forme d'une composition pharmaceutique comprenant un tampon acétate de sodium/acide acétique.

17. Utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes, dans laquelle ladite exendine est l'exendine 4.

18. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 16, dans laquelle ladite exendine est l'exendine 3.

19. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 16, dans laquelle ledit analogue agoniste d'exendine est un composé peptidique de formule :

1 5 10

Xaa_1 Xaa_2 Xaa_3 Gly Thr Xaa_4 Xaa_5 Xaa_6 Xaa_7 Xaa_8

15 20

Ser Lys Gln Xaa_9 Glu Glu Glu Ala Val Arg Leu

25 30

Xaa_{10} Xaa_{11} Xaa_{12} Xaa_{13} Leu Lys Asn Gly Gly Xaa_{14}

35

Ser Ser Gly Ala Xaa_{15} Xaa_{16} Xaa_{17} Xaa_{18}-Z

dans laquelle Xaa_1 est His ou Arg ;

Xaa_2 est Ser ou Gly ;

Xaa_3 est Asp ou Glu ;

Xaa_4 est Phe ou naphtylalanine ;

Xaa_5 est Thr ou Ser ;

Xaa_6 est Ser ou Thr ;

Xaa_7 est Asp ou Glu ;

Xaa_8 est Leu ou pentylglycine ;

Xaa_9 est Leu ou pentylglycine ;

Xaa_{10} est Phe ou naphtylalanine ;

Xaa_{11} est Ile, Val ou tert-butylglycine ;

Xaa_{12} est Glu ou Asp ;

Xaa_{13} est Trp ou Phe ;

Xaa_{14}, Xaa_{15}, Xaa_{16} et Xaa_{17} sont indépendamment Pro, homoproline, thioproline ou N-alkyl-alanine ;

Xaa_{18} est Ser ou Tyr ; et

Z est -OH ou $-NH_2$;

avec pour condition que le composé n'a pas la formule de l'exendine-3 [SEQ. ID. NO.1] ou bien de l'exendine-4 [SEQ.ID.NO.2]

ou un sel pharmaceutiquement acceptable de celui-ci.

20. Utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes, comprenant en outre une

quantité efficace d'une amyline ou d'un analogue agoniste d'amyline.

21. Utilisation selon la revendication 21, dans laquelle ledit analogue agoniste d'amyline est ^{25}Pro, ^{28}Pro, ^{29}Pro-h-amyline.

22. Exendine ou analogue agoniste d'exendine pour l'utilisation dans le traitement d'une maladie ou d'un trouble qui pourrait être amélioré par une diminution de motilité gastro-intestinale ou un retard de la vidange gastrique, où ladite maladie ou ledit trouble est choisi parmi une diverticulite aiguë, un syndrome de chasse postprandiale, une hyperglycémie postprandiale associée à une tolérance au glucose détériorée, une hyperglycémie postprandiale associée à un diabète de type 1 ou une hyperglycémie postprandiale associée à un diabète de type 2 ;

ladite exendine ou ledit analogue agoniste d'exendine procurant la réduction de motilité gastrique ou le retard de vidange gastrique, et

ladite exendine ou ledit analogue agoniste d'exendine étant un composé peptidique de formule :

1 5 10

Xaa_1 Xaa_2 Xaa_3 Gly Thr Xaa_4 Xaa_5 Xaa_6 Xaa_7 Xaa_8

15 20

Ser Lys Gln Xaa_9 Glu Glu Glu Ala Val Arg Leu

25 30

Xaa_{10} Xaa_{11} Xaa_{12} Xaa_{13} Leu Lys Asn Gly Gly Xaa_{14}

35

Ser Ser Gly Ala Xaa_{15} Xaa_{16} Xaa_{17} Xaa_{18}-Z

dans laquelle Xaa_1 est His, Arg ou Tyr ;

Xaa_2 est Ser, Gly, Ala ou Thr ;

Xaa_3 est Asp ou Glu ;

Xaa_4 est Phe, Tyr ou naphtylalanine ;

Xaa_5 est Thr ou Ser ;

Xaa_6 est Ser ou Thr ;

Xaa_7 est Asp ou Glu ;

Xaa_8 est Leu, Ile, Val, pentylglycine ou Met ;

Xaa_9 est Leu, Ile, pentylglycine, Val ou Met ;

Xaa_{10} est Phe, Tyr ou naphtylalanine ;

Xaa_{11} est Ile, Val, Leu, pentylglycine, tert-butylglycine ou Met ;

Xaa_{12} est Glu ou Asp ;

Xaa_{13} est Trp, Phe, Tyr ou naphtylalanine ;

Xaa_{14}, Xaa_{15}, Xaa_{16} et Xaa_{17} sont indépendamment Pro, homoproline, 3Hyp, 4Hyp, thioproline, N-alkylglycine, N-alkylpentylglycine ou N-alkylalanine ;

Xaa_{18} est Ser, Thr ou Tyr ; et

Z est -OH ou $-NH_2$,

ou un sel pharmaceutiquement acceptable de ceux-ci.

23. Exendine ou analogue agoniste d'exendine pour l'utilisation dans le traitement d'une ingestion de toxine, ladite exendine ou ledit analogue agoniste d'exendine procurant une régulation bénéfique de la motilité gastro-intestinale, ladite exendine ou ledit analogue agoniste d'exendine étant un composé peptidique de formule :

1 5 10

Xaa_1 Xaa_2 Xaa_3 Gly Thr Xaa_4 Xaa_5 Xaa_6 Xaa_7 Xaa_8

15 20

Ser Lys Gln Xaa_9 Glu Glu Glu Ala Val Arg Leu

25 30

Xaa_{10} Xaa_{11} Xaa_{12} Xaa_{13} Leu Lys Asn Gly Gly Xaa_{14}

35

Ser Ser Gly Ala Xaa_{15} Xaa_{16} Xaa_{17} Xaa_{18}-Z

dans laquelle Xaa_1 est His, Arg ou Tyr ;

Xaa_2 est Ser, Gly, Ala ou Thr ;

Xaa_3 est Asp ou Glu ;

Xaa_4 est Phe, Tyr ou naphtylalanine ;

Xaa_5 est Thr ou Ser ;

Xaa_6 est Ser ou Thr ;

Xaa_7 est Asp ou Glu ;

Xaa_8 est Leu, Ile, Val, pentylglycine ou Met ;

Xaa_9 est Leu, Ile, pentylglycine, Val ou Met ;

Xaa_{10} est Phe, Tyr ou naphtylalanine ;

Xaa_{11} est Ile, Val, Leu, pentylglycine, tert-butylglycine ou Met ;

Xaa_{12} est Glu ou Asp ;

Xaa_{13} est Trp, Phe, Tyr ou naphtylalanine ;

Xaa_{14}, Xaa_{15}, Xaa_{16} et Xaa_{17} sont indépendamment Pro, homoproline, 3Hyp, 4Hyp, thioproline, N-alkylglycine, N-alkylpentylglycine ou N-alkylalanine ;

Xaa_{18} est Ser, Thr ou Tyr ; et

Z est -OH ou $-NH_2$,

ou un sel pharmaceutiquement acceptable de ceux-ci.

24. Exendine ou analogue agoniste d'exendine selon la revendication 22 ou 23, l'exendine étant l'exendine 3 ou l'exendine 4.

25. Exendine ou analogue agoniste d'exendine selon la revendication 22 ou 23, ledit analogue agoniste d'exendine étant un composé peptidique de formule :

1 5 10

Xaa_1 Xaa_2 Xaa_3 Gly Thr Xaa_4 Xaa_5 Xaa_6 Xaa_7 Xaa_8

15 20

Ser Lys Gln Xaa_9 Glu Glu Glu Ala Val Arg Leu

25 30

Xaa_{10} Xaa_{11} Xaa_{12} Xaa_{13} Leu Lys Asn Gly Gly Xaa_{14}

35

Ser Ser Gly Ala Xaa_{15} Xaa_{16} Xaa_{17} Xaa_{18}-Z

dans laquelle Xaa_1 est His ou Arg ;

Xaa_2 est Ser ou Gly ;

Xaa_3 est Asp ou Glu ;

Xaa_4 est Phe ou naphtylalanine ;

Xaa_5 est Thr ou Ser ;

Xaa_6 est Ser ou Thr ;

Xaa_7 est Asp ou Glu ;

Xaa_8 est Leu ou pentylglycine ;

Xaa_9 est Leu ou pentylglycine ;

Xaa_{10} est Phe ou naphtylalanine ;

Xaa_{11} est Ile, Val ou tert-butylglycine ;

Xaa_{12} est Glu ou Asp ;

Xaa_{13} est Trp ou Phe ;

Xaa_{14}, Xaa_{15}, Xaa_{16} et Xaa_{17} sont indépendamment Pro, homoproline, thioproline ou N-alkyl-alanine ;

Xaa_{18} est Ser ou Tyr ; et

Z est -OH ou $-NH_2$;

avec pour condition que le composé n'a pas la formule de l'exendine-3 [SEQ. ID. NO.1] ou bien de l'exendine-4 [SEQ.ID.NO.2]

ou un sel pharmaceutiquement acceptable de ceux-ci.

GLP-1(7-37)
HAEGTFTSDV SSYLEGQAAK EFIAWLVKGR G-NH_2

EXENDINE-3
HSDGTFTSDL SKQMEEEAVR LFIEWLKNGG PSSGAPPPS-NH_2

EXENDINE-4
HGEGTFTSDL SKQMEEEAVR LFIEWLKNGG PSSGAPPPS-NH_2

EXENDIN(9-39)
DL SKQMEEEAVR LFIEWLKNGG PSSGAPPPS-NH_2

FIG. 1

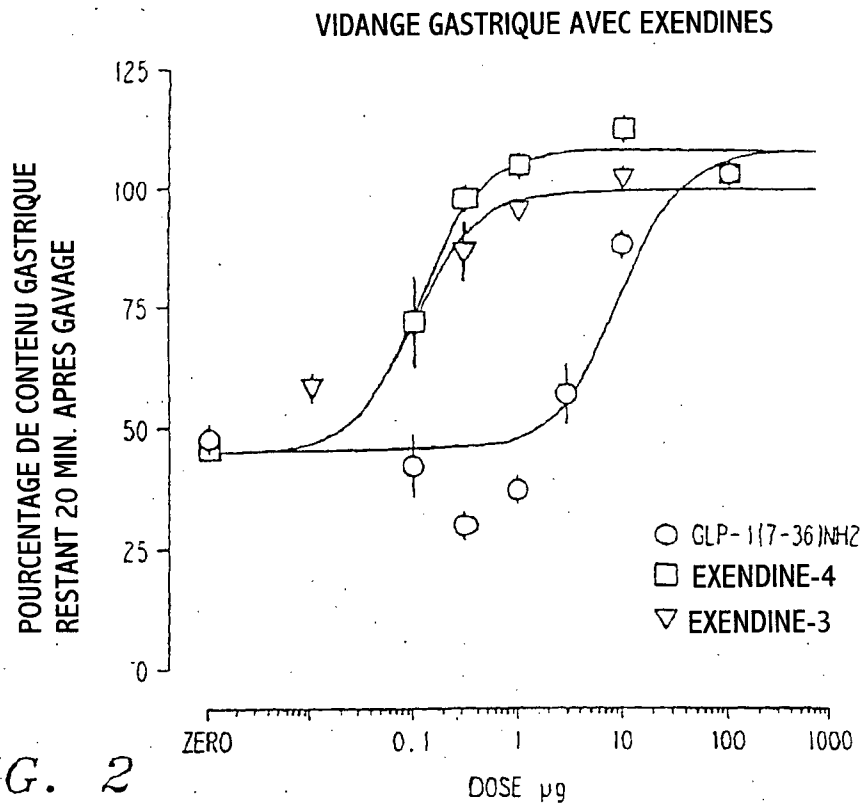

VIDANGE GASTRIQUE AVEC EXENDINES
POURCENTAGE DE CONTENU GASTRIQUE RESTANT 20 MIN. APRES GAVAGE
125
100
75
50
25
0
ZERO
0.1
1
10
100
1000
DOSE µg
GLP-1(7-36)NH2
EXENDINE-4
EXENDINE-3

FIG. 2

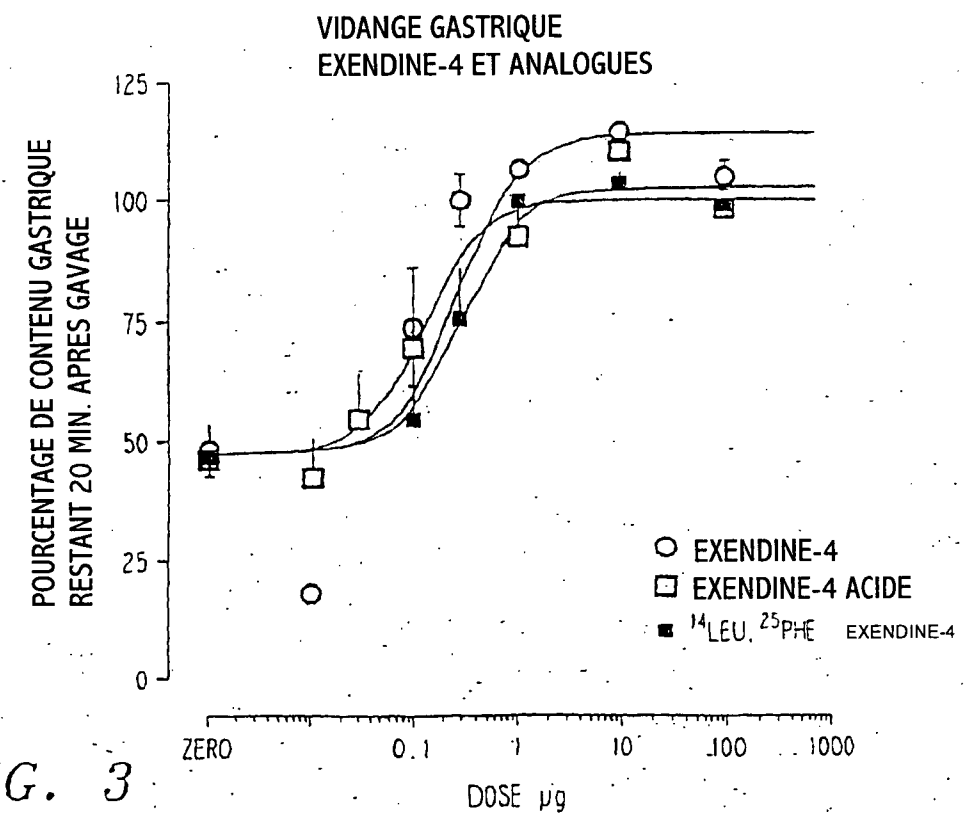

VIDANGE GASTRIQUE
EXENDINE-4 ET ANALOGUES
POURCENTAGE DE CONTENU GASTRIQUE RESTANT 20 MIN. APRES GAVAGE
125
100
75
50
25
0
ZERO
0.1
1
10
100
1000
DOSE µg
EXENDINE-4
EXENDINE-4 ACIDE
14LEU, 25PHE EXENDINE-4

FIG. 3

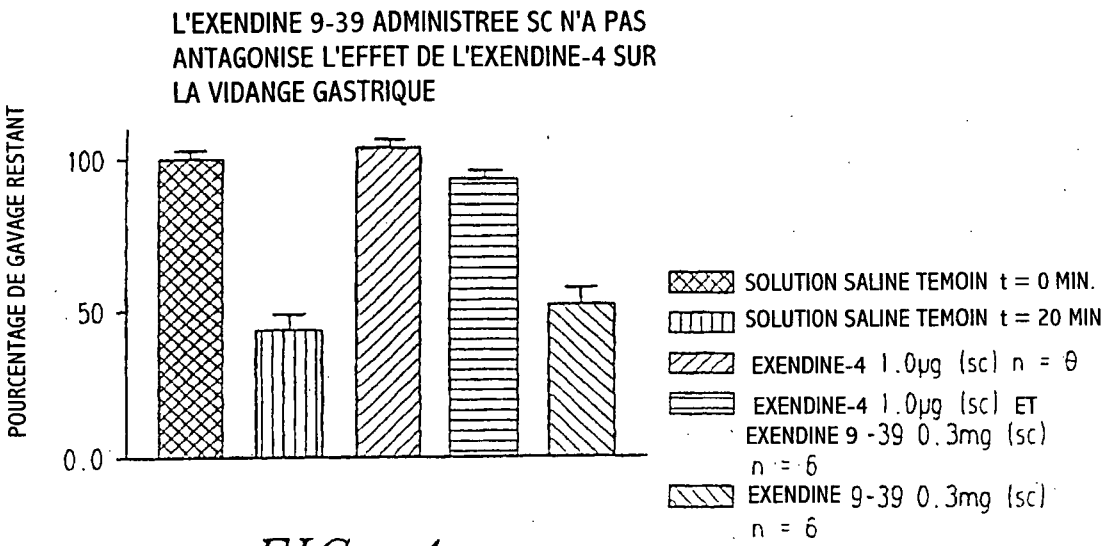

L'EXENDINE 9-39 ADMINISTREE SC N'A PAS
ANTAGONISE L'EFFET DE L'EXENDINE-4 SUR
LA VIDANGE GASTRIQUE
POURCENTAGE DE GAVAGE RESTANT
100
50
0.0
SOLUTION SALINE TEMOIN t = 0 MIN.
SOLUTION SALINE TEMOIN t = 20 MIN
EXENDINE-4 1.0µg (sc) n = 6
EXENDINE-4 1.0µg (sc) ET
EXENDINE 9-39 0.3mg (sc)
n = 6
EXENDINE 9-39 0.3mg (sc)
n = 6

FIG. 4

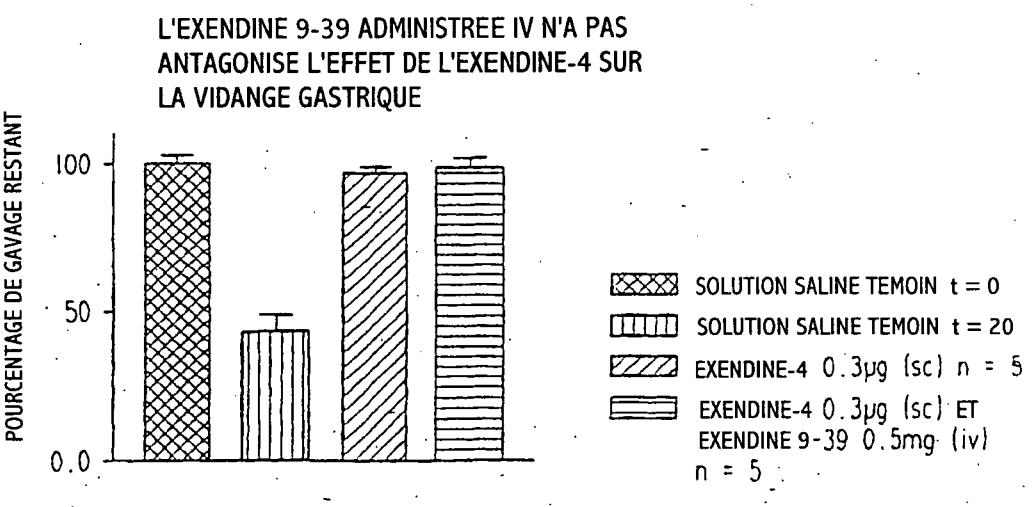

L'EXENDINE 9-39 ADMINISTREE IV N'A PAS
ANTAGONISE L'EFFET DE L'EXENDINE-4 SUR
LA VIDANGE GASTRIQUE
POURCENTAGE DE GAVAGE RESTANT
100
50
0.0
SOLUTION SALINE TEMOIN t = 0
SOLUTION SALINE TEMOIN t = 20
EXENDINE-4 0.3µg (sc) n = 5
EXENDINE-4 0.3µg (sc) ET
EXENDINE 9-39 0.5mg (iv)
n = 5

FIG. 5

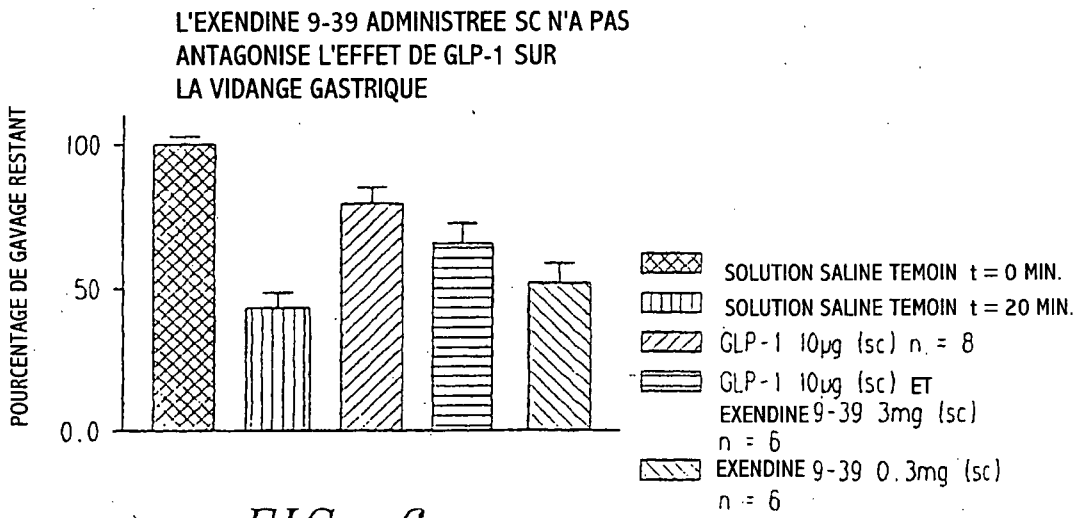

L'EXENDINE 9-39 ADMINISTREE SC N'A PAS
ANTAGONISE L'EFFET DE GLP-1 SUR
LA VIDANGE GASTRIQUE
POURCENTAGE DE GAVAGE RESTANT
100
50
0.0
SOLUTION SALINE TEMOIN t = 0 MIN.
SOLUTION SALINE TEMOIN t = 20 MIN.
GLP-1 10µg (sc) n = 8
GLP-1 10µg (sc) ET
EXENDINE 9-39 3mg (sc)
n = 6
EXENDINE 9-39 0.3mg (sc)
n = 6

FIG. 6

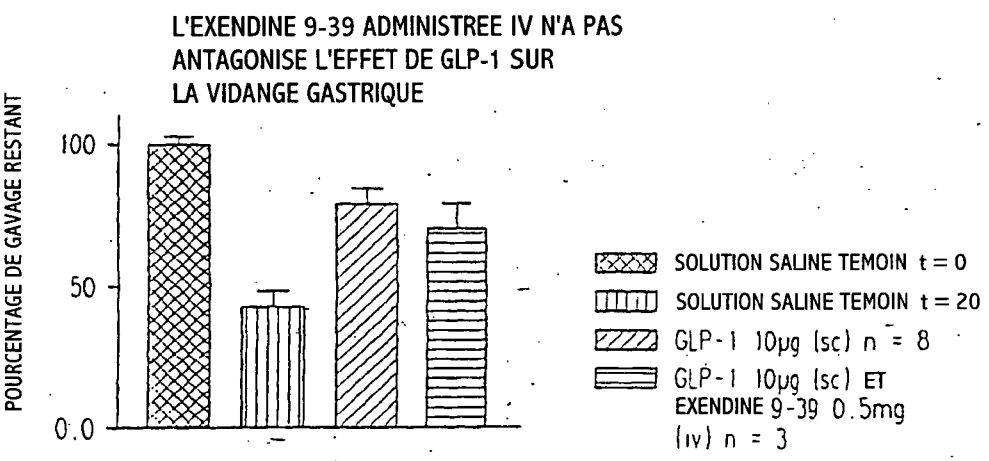

L'EXENDINE 9-39 ADMINISTREE IV N'A PAS
ANTAGONISE L'EFFET DE GLP-1 SUR
LA VIDANGE GASTRIQUE
POURCENTAGE DE GAVAGE RESTANT
100
50
0.0
SOLUTION SALINE TEMOIN t = 0
SOLUTION SALINE TEMOIN t = 20
GLP-1 10µg (sc) n = 8
GLP-1 10µg (sc) ET
EXENDINE 9-39 0.5mg
(IV) n = 3

FIG. 7

1 5 10 15 20

Xaa_1 Xaa_2 Xaa_3 Gly Thr Xaa_4 Xaa_5 Xaa_6 Xaa_7 Xaa_8 Ser Lys Gln Xaa_9 Glu Glu Glu Ala Val Arg Leu

25 30 35

Xaa_{10} Xaa_{11} Xaa_{12} Xaa_{13} Leu Lys Asn Gly Gly Xaa_{14} Ser Ser Gly Ala Xaa_{15} Xaa_{16} Xaa_{17} Xaa_{18} -Z

Composé (SEQ. ID NO.)	Xaa_1	Xaa_2	Xaa_3	Xaa_4	Xaa_5	Xaa_6	Xaa_7	Xaa_8	Xaa_9	Xaa_{10}	Xaa_{11}	Xaa_{12}	Xaa_{13}	Xaa_{14}	Xaa_{15}	Xaa_{16}	Xaa_{17}	Xaa_{18}	Z
1 [5]	His	Gly	Glu	Phe	Thr	Ser	Asp	Leu	Leu	Phe	Ile	Glu	Phe	Pro	Pro	Pro	Pro	Ser	NH_2
2 [6]	His	Gly	Glu	Phe	Thr	Ser	Asp	Leu	Leu	Phe	Ile	Glu	Trp	Pro	Pro	Pro	Pro	Ser	NH_2
3 [7]	His	Gly	Glu	Phe	Thr	Ser	Asp	Leu	Met	Phe	Ile	Glu	Phe	Pro	Pro	Pro	Pro	Ser	NH_2
4 [8]	Tyr	Gly	Glu	Phe	Thr	Ser	Asp	Leu	Met	Phe	Ile	Glu	Trp	Pro	Pro	Pro	Pro	Ser	NH_2
5 [9]	His	Gly	Glu	Phe	Thr	Ser	Asp	Leu	Met	Phe	Ile	Glu	Trp	Pro	Pro	Pro	Pro	Tyr	NH_2
6 [10]	His	Gly	Asp	Phe	Thr	Ser	Asp	Leu	Met	Phe	Ile	Asp	Trp	Pro	Pro	Pro	Pro	Ser	NH_2
7 [11]	His	Gly	Glu	naph	Thr	Ser	Asp	Leu	Met	naph	Ile	Glu	Trp	Pro	Pro	Pro	Pro	Ser	NH_2
8 [12]	His	Gly	Glu	Phe	Ser	Ser	Asp	Leu	Met	Phe	Ile	Glu	Trp	Pro	Pro	Pro	Pro	Ser	NH_2
9 [13]	His	Gly	Glu	Phe	Ser	Thr	Asp	Leu	Met	Phe	Ile	Glu	Trp	Pro	Pro	Pro	Pro	Ser	NH_2
10 [14]	His	Gly	Glu	Phe	Thr	Thr	Asp	Leu	Met	Phe	Ile	Glu	Trp	Pro	Pro	Pro	Pro	Ser	NH_2
11 [15]	His	Gly	Glu	Phe	Thr	Ser	Glu	Leu	Met	Phe	Ile	Glu	Trp	Pro	Pro	Pro	Pro	Ser	NH_2
12 [16]	His	Gly	Glu	Phe	Thr	Ser	Asp	pGly	Met	Phe	Ile	Glu	Trp	Pro	Pro	Pro	Pro	Ser	NH_2
13 [17]	His	Gly	Glu	Phe	Thr	Ser	Asp	pGly	Leu	Phe	Ile	Glu	Phe	Pro	Pro	Pro	Pro	Ser	NH_2
14 [18]	His	Gly	Glu	Phe	Thr	Ser	Asp	Leu	pGly	Phe	Ile	Glu	Trp	Pro	Pro	Pro	Pro	Ser	NH_2

FIG. 8A

Composé (SEQ. ID NO.)	Xaa_1	Xaa_2	Xaa_3	Xaa_4	Xaa_5	Xaa_6	Xaa_7	Xaa_8	Xaa_9	Xaa_{10}	Xaa_{11}	Xaa_{12}	Xaa_{13}	Xaa_{14}	Xaa_{15}	Xaa_{16}	Xaa_{17}	Xaa_{18}	Z
15 [19]	His	Gly	Glu	Phe	Thr	Ser	Asp	Leu	pGly	Phe	Ile	Glu	Phe	Pro	Pro	Pro	Pro	Ser	NH_2
16 [20]	His	Gly	Glu	Phe	Thr	Ser	Asp	Leu	Met	noph	Ile	Glu	Trp	Pro	Pro	Pro	Pro	Ser	NH_2
17 [21]	His	Gly	Glu	Phe	Thr	Ser	Asp	Leu	Met	Phe	Val	Glu	Trp	Pro	Pro	Pro	Pro	Ser	NH_2
18 [22]	His	Gly	Glu	Phe	Thr	Ser	Asp	Leu	Leu	Phe	Val	Glu	Phe	Pro	Pro	Pro	Pro	Ser	NH_2
19 [23]	His	Gly	Glu	Phe	Thr	Ser	Asp	Leu	Met	Phe	tBug	Glu	Trp	Pro	Pro	Pro	Pro	Tyr	NH_2
20 [24]	His	Gly	Glu	Phe	Thr	Ser	Asp	Leu	Leu	Phe	tBug	Glu	Phe	Pro	Pro	Pro	Pro	Ser	NH_2
21 [25]	His	Gly	Glu	Phe	Thr	Ser	Asp	Leu	Met	noph	Ile	Asp	Trp	Pro	Pro	Pro	Pro	Ser	NH_2
22 [26]	His	Ala	Glu	Phe	Thr	Ser	Asp	Leu	Leu	Phe	Ile	Glu	Phe	Pro	Pro	Pro	Pro	Ser	NH_2
23 [27]	His	Gly	Glu	Phe	Thr	Ser	Asp	Leu	Met	Phe	Ile	Glu	Trp	tPro	tPro	tPro	tPro	Ser	NH_2
24 [28]	His	Gly	Glu	Phe	Thr	Ser	Asp	Leu	Met	Phe	Ile	Glu	Trp	Pro	tPro	tPro	tPro	Ser	NH_2
25 [29]	His	Gly	Glu	Phe	Thr	Ser	Asp	Leu	Met	Phe	Ile	Glu	Trp	hPro	hPro	hPro	hPro	Ser	NH_2
26 [30]	His	Gly	Glu	Phe	Thr	Ser	Asp	Leu	Met	Phe	Ile	Glu	Trp	Pro	hPro	hPro	hPro	Ser	NH_2
27 [31]	His	Gly	Glu	Phe	Thr	Ser	Asp	Leu	Leu	Phe	Ile	Glu	Phe	tPro	tPro	tPro	tPro	Ser	NH_2
28 [32]	His	Gly	Glu	Phe	Thr	Ser	Asp	Leu	Leu	Phe	Ile	Glu	Phe	hPro	hPro	hPro	hPro	Ser	NH_2
29 [33]	His	Gly	Glu	Phe	Thr	Ser	Asp	Leu	Met	Phe	Ile	Glu	Trp	MeAla	MeAla	MeAla	MeAla	Ser	NH_2
30 [34]	His	Gly	Glu	Phe	Thr	Ser	Asp	Leu	Met	Phe	Ile	Glu	Trp	Pro	MeAla	MeAla	MeAla	Ser	NH_2
31 [35]	His	Gly	Glu	Phe	Thr	Ser	Asp	Leu	Leu	Phe	Ile	Glu	Phe	MeAla	MeAla	MeAla	MeAla	Ser	NH_2

FIG. 8B